

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Venenos como fonte de moléculas ativas contra biofilmes bacterianos patogênicos

MURIEL PRIMON DE BARROS

PORTO ALEGRE, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Venenos como fonte de moléculas ativas contra biofilmes bacterianos patogênicos

Tese apresentada por **Muriel Primon de Barros**
para a obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Alexandre José Macedo

Porto Alegre, 2017

Tese/Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado/Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 27 de março de 2017, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Simone Cristina Baggio Gnoatto
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Ana Paula Guedes Frazzon
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Denise Brentan da Silva
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Primon-Barros, Muriel
Venenos como fonte de moléculas ativas contra
biofilmes bacterianos patogênicos / Muriel Primon-
Barros. -- 2017.
212 f.

Orientador: Alexandre José Macedo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-
RS, 2017.

1. Venenos de animais. 2. Venenos de serpentes.
3. Peptídeos. 4. Biofilmes bacterianos patogênicos.
I. Macedo, Alexandre José, orient. II. Título.

Agradecimentos ao CNPq, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho; ao Núcleo Regional de Ofiologia de Porto Alegre (NOPA), Fundação de Zoobotânica, que disponibilizou as amostras, e; ao Laboratório de Peptídeos e Enzimas Proteolíticas do Centro de Biotecnologia e ao Laboratório de Biofilmes e Diversidade Microbiana da Faculdade de Farmácia, ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que disponibilizaram os equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos na elaboração da presente tese.

DEDICATÓRIA:

Aos meu pais, Gemanir e José Altino e à minha irmã, Rubia.

“O tempo que nos separa é o que mais nos aproxima.”

(Jayme Caetano Braun)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Alexandre José Macedo, meu agradecimento especial pelo incentivo, apoio, suporte técnico e psicológico, pela dedicação diária, confiança oportunidades e excelente convivência. Obrigada pelo exemplo, que levarei sempre comigo de amigo e chefe.

À professora Dr. Tiana Tasca, que sempre me acompanhou na trajetória de toda a pós-graduação. Obrigada pelo exemplo, que levarei sempre comigo de amiga e de quem ama o que faz.

Às professoras que me incentivaram e acompanharam e esta tese, à Dr. Simone Baggio Gnoatto, Dr. Aline Gigon Zimer, Dr. Denise Brentan da Silva.

Às biólogas Acácia Winter e Maria Lúcia Machado Alves, pela parceria de coleta e doação dos venenos e pela disponibilidade a qualquer momento. Obrigada pelo exemplo de respeito e amor aos animais, em especial às serpentes, que aprendi a admirar muito no decorrer deste trabalho.

Aos que fazem e fizeram parte do grupo de pesquisa do Laboratório de Peptídeos e Enzimas Proteolíticas do centro de Biotecnologia, do Laboratório de Biofilmes e Diversidade Microbiana e do Laboratório de Pesquisa em Parasitologia da Faculdade de Farmácia da UFRGS. Obrigada pela convivência, amizade, pela bagunça e risadas nos laboratórios, pelo agito das festas de final de ano, por dividirem e apoiarem os mais diversos momentos pessoais e profissionais, como a discussão de onde seria o *happy hour* ou dos resultados e contaminações bizarras que não sabemos de onde saem. É gratificante saber que aprendi muito com vocês: Fran, Dani, Laura, Mari, Flávia, Rodrigo, Rafael, Lú, Anelise, Júlia, Luana, Luiza, Sharon, Vanessa, Francielly, Jéssica, Karine, Grazi, Débora, Nicolas, Amanda, Pat, Dejo e Márcia.

Às minhas colegas de doutorado e amigas de todas as horas, Ana e Odelta, que diariamente acompanharam e ajudaram na rotina do doutorado e da vida. Minhas

fiéis escudeiras e melhores conselheiras agradeço por dividirem o conhecimento e as alegrias da vida.

Aos meus pais, Gemanir e José Altino, minha irmã, Rubia e a minha família pelo carinho e amor que me impulsionam a buscar e conhecer o melhor de mim. Por toda a dedicação e incentivo para que este sonho se tornasse possível.

Ao meu amor, Felipe Favero, que me incentiva diariamente, que me ensina muito com seu conhecimento. Obrigada por estar do meu lado neste momento importante e por torcer por mim sempre.

Obrigada a todos que contribuíram para a realização desta tese e aqueles que acompanharam e contribuíram minha vida profissional, que até hoje depositaram confiança no meu trabalho e na minha capacidade.

EPÍGRAFE:

*“Nesta jornada terrena, aprende muito quem anda, sempre
que a alma se agranda a estrada fica pequena.”*

(Jayme Caetano Braun)

RESUMO

Biofilmes são comunidades bacterianas tridimensionais complexas, que vivem organizadas e aderidas a uma superfície, biótica ou abiótica, embebidas em uma matriz exopolimérica. Cerca de 80% das bactérias vivem organizadas na forma de biofilmes, pois dentro destas estruturas são menos sensíveis aos antibióticos e à resposta imune do hospedeiro. Dentre as principais bactérias formadoras de biofilmes têm-se *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e enterobacteriaceas. Estas bactérias formadoras de biofilmes são importantes colonizadoras da superfície de dispositivos médicos e implantes, aumentando a morbidade e mortalidade dos pacientes que apresentam este tipo de infecção. A investigação de novas estratégias para prevenção e tratamento de infecções por biofilmes é urgentemente necessária. Dentre estas estratégias estão a pesquisa de diferentes mecanismos ou substâncias capazes de provocar a inibição da formação ou a erradicação do biofilme formado. Neste contexto, os venenos animais representam uma fonte ainda inexplorada de uma vasta quantidade de moléculas bioativas, candidatas ao desenvolvimento de novas terapias, inclusive antibiofilme. O principal objetivo deste estudo é avaliar diferentes venenos de serpentes e análogos sintéticos como fonte de moléculas contra biofilmes bacterianos patogênicos. O capítulo 1 revisa estudos que relatam a atividade antimicrobiana (contra bactérias, vírus, protozoários e fungos) de 170 peptídeos isolados de venenos de oito diferentes animais. Peptídeos antimicrobianos vêm ganhando destaque em pesquisas para o tratamento de infecções e peptídeos com atividade antibiofilme são uma nova e promissora abordagem, para o tratamento de infecções relacionadas. O capítulo 2 mostra as atividades antimicrobiana, antibiofilme e de erradicação de biofilmes pré-estabelecidos de 18 análogos de peptídeos de oriundos de venenos de serpentes. Inicialmente foram analisadas e alinhadas 170 sequências peptídeos oriundos de venenos animais. O pepptídeos 16 apresentou considerável atividade antimicrobiana contra cepas bacterianas Gram-positivas, sensíveis e resistentes. Para *S. epidermidis* os peptídeos 1, 2, 3, 4, 12, 13 e 16 apresentaram menos de 50% de formação de biofilme e os peptídeos 2, 3 e 16 reduziram o biofilme pré-formad. A citotoxicidade e a actividade hemolítica foram testadas e os peptídeos ativos 2 e 16 apresentaram citotoxicidade e hemólise significativas em comparação com os controles. A posição dos aminoácidos pode contribuir para as atividades,

sendo que mais testes são necessários para entender a relação das posições de aminoácidos na ação. O capítulo 3 mostra as atividades antif formação e erradicação de biofilmes pré-estabelecidos de dezessete diferentes venenos de serpentes, duas de escorpiões e três de anêmonas marinhas, bem como as secreções de pele de três espécies de sapos. Consideráveis atividades antif formação e de erradicação foram verificadas contra as cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. cloacae* por todos os venenos de serpentes testados, em diferentes concentrações. Além disso, um fracionamento inicial foi realizado e as melhores condições foram selecionadas para um novo fracionamento, onde foram testadas 27 frações de veneno de *B. diporus*. As frações 8, 14 e 23 apresentaram atividades com menos de 50% de formação de biofilme e menos de 80% do biofilme remanescente. Os resultados indicam a capacidade dos venenos, especialmente da serpente de *B. diporus*, de serem potenciais fontes de moléculas como estratégia para combater os biofilmes patogênicos bacterianos. O presente estudo aborda o potencial de venenos animais, principalmente venenos de serpentes, como fonte de moléculas, que podem apresentar inúmeras atividades farmacológicas inéditas, incluindo àquelas relacionadas com a prevenção da formação e de erradicação de biofilmes bacterianos patogênicos. Atualmente, existem seis medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), oriundos de venenos, como o Captopril (Capoten®). Este estudo mostra a capacidade de venenos como fonte de novas moléculas ativas contra biofilmes patogênicos.

Palavras-Chave: Venenos de animais, venenos de serpentes, peptídeos, biofilmes bacterianos patogênicos.

ABSTRACT

Biofilms are complex three-dimensional bacterial communities living organized and attached on a surface, embedded in exopolimeric matrix. About 80% of live bacteria are organized in the form of biofilms because in these structures are less sensitive to antibiotics and host immune response. *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and enterobacteriaceas are the main biofilm forming bacteria. These forming biofilms bacteria are important colonizing surface of medical devices and implants, increasing the morbidity and mortality of patients with this kind of infection. The investigation of new strategies for prevention and treatment of infections caused by biofilms is urgently needed. Among these strategies, there are the research of different mechanisms or substances capable of inhibit the formation or to eradicate the formed biofilm. In this context, animal venoms represent an untapped source of vast amounts of bioactive molecules, candidates for the development of new therapies, including antibiofilm. The main objective of this study is to evaluate different venoms of snakes and synthetic analogs as source of molecules against pathogenic bacterial biofilms. The chapter 1 reviewed numerous studies reporting the antimicrobial activity (against bacteria, viruses, protozoa and fungi) of 170 peptides isolated from venoms of eight different animals. Antimicrobial peptides have been gaining attention in research for the treatment of infections and peptides with antibiofilm activity are a new and promising approach for the treatment of infections related. The chapter 2 shows the antimicrobial, antibiofilm and eradication of established biofilms activities of 18 analogs of peptides derived from snake venoms. Initially, 170 peptide sequences from animal venoms were analyzed and aligned. The peptide 16 showed considerable antimicrobial activity against Gram-positive bacterial strains, sensitive and resistant. For *S. epidermidis*, the peptides 1, 2, 3, 4, 12, 13 and 16 showed less than 50% of biofilm formation and peptides 2, 3 and 16 reduced preformed biofilm. Cytotoxicity and hemolytic activity were tested and active peptides 2 and 16 showed significant cytotoxicity and hemolysis compared with the controls. The position of the amino acids can contribute to the activities and more tests are needed to understand the relationship of the amino acid positions in the action. The chapter 3 shows the antiformation and eradication of established biofilms activities of seventeen different venoms of snakes,

two of scorpions and three of marine anemones, as well as the skin secretions of three species of frogs. Significant activities were observed against strains of *S. aureus*, *S. epidermidis* and *E. cloacae* for all venom of snakes tested at different concentrations. In addition, an initial fractionation was performed and the best conditions were selected for a new fractionation, where 27 fractions of *B. diporus* venom were tested. Fractions 8, 14 and 23 presented activities with less than 50% of biofilm formation and less than 80% of the remaining biofilm. The results indicate the ability of venoms, especially the snake *B. diporus*, to be potential sources of molecules as a strategy to combat bacterial pathogenic biofilms. This study addresses the potential of animal venoms, especially snake venoms, as source of molecules, which can present numerous unpublished pharmacological activities, including those related to the prevention of the formation and eradication of pathogenic bacterial biofilms. Currently, there are six drugs approved by *Food and Drug Administration* (FDA), derived from venoms, such as Captopril®. This study shows the ability of venoms as source of new bioactive molecules against pathogenic biofilms.

Keywords: Venomous animals, snake venoms, peptides, pathogenic bacterial biofilms.

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO	19
II - REVISÃO DO TEMA	23
II - 1. Biofilmes.....	25
II - 2. Infecções associadas a biofilmes	28
II - 2.1. Bactérias formadoras de biofilmes de importância médica	31
II - 2.1.1. <i>Staphylococcus</i> spp.....	33
II - 2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
II - 2.1.3. Enterobacteriaceae.....	35
II - 3. Estratégias de combate aos biofilmes bacterianos patogênicos	36
II - 3.1. Inibição da formação de biofilmes	37
II - 3.2. Inibição do desenvolvimento e diferenciação da estrutura dos biofilmes	38
II - 3.3 Erradicação de biofilmes já formados	39
II - 3.4 Indução da dispersão do biofilme	40
II - 4. Venenos como fonte de moléculas ativas.....	40
II - 4.1 Peptídeos oriundos de venenos animais com potenciais aplicações farmacêuticas..	43
III – OBJETIVOS	45
III - 1. Objetivo geral.....	47
III - 2. Objetivos específicos	47
IV - CAPÍTULOS	49
IV – CAPÍTULO 1 - Animal venom peptides: potential for new antimicrobial agents.....	51
IV – CAPÍTULO 2 – Antimicrobial and antibiofilm activities of analogs peptides from snake venoms.....	91
IV – CAPÍTULO 3 - Remarkable activity of snake venoms against bacterial pathogenic biofilms	121
V - DISCUSSÃO GERAL.....	185
VI - CONCLUSÕES	193
VII – PERSPECTIVAS.....	197
VII - REFERÊNCIAS.....	201

Doenças infecciosas são a principal causa de morte no mundo, sendo que as infecções bacterianas contribuem substancialmente com esta alta taxa de mortalidade (RASKO; SPERANDIO, 2010). As bactérias patogênicas dispõem de fatores de virulência, que corroboram para o estabelecimento e efetivação da doença. A secreção de toxinas, o *quorum sensing* e a formação de biofilmes são exemplos destes fatores (HETT; HUNG, 2009). Cerca de 80% das bactérias vivem organizadas na forma de biofilmes, pois dentro destas estruturas são menos sensíveis aos antibióticos e à resposta imune do hospedeiro, permitindo o desenvolvimento de infecções persistentes (DAVIES, 2003). Ainda, biofilmes desempenham um papel crucial em infecções nosocomiais, especialmente àquelas relacionadas a dispositivos médicos e implantes (FRANCOLINI; DONELLI, 2010).

A utilização de dispositivos médicos vem se tornando cada vez mais recorrente e indispensável ao atendimento de pacientes (BUSSCHER et al., 2012). As bactérias formadoras de biofilmes são importantes colonizadoras da superfície de dispositivos, tais como, cateteres, implantes e próteses (HØIBY et al., 2014). O tratamento das infecções relacionadas com estes dispositivos representa um encargo financeiro enorme para os serviços de saúde e estão associados com o aumento da morbidade e mortalidade dos pacientes (PERCIVAL; SULEMAN; DONELLI, 2015).

A investigação de novas estratégias para prevenção e tratamento de infecções por biofilmes é urgentemente necessária, dentre estas estão a busca por novas moléculas com ação antimicrobiana, antibiofilme ou antivirulência e, a pesquisa de novos recobrimentos de superfícies e novos biomateriais para produção de superfícies que sejam biocompatíveis e ao mesmo tempo, proporcionem condições menos favoráveis a agregação bacteriana e desenvolvimento de biofilme (BUSSCHER et al., 2012; HØIBY et al., 2014).

Venenos são misturas complexas de sais e moléculas orgânicas, tais como poliaminas, neurotransmissores, proteínas, enzimas, peptídeos e aminoácidos (BOGIN, 2005; FRY et al., 2009). Atualmente, os venenos animais representam uma grande fonte de moléculas biologicamente ativas que podem ser atrativas candidatas para o desenvolvimento de novas terapias (BAILEY; WILCE, 2001; MOHANTY et al., 2016). Dentre os venenos em geral, vários estudos apontam os

potenciais efeitos farmacológicos de venenos de serpentes (FERNANDES-PEDROSA; FÉLIX-SILVA; MENEZES, 2013; LARABA-DJEBARI; FATAH, 2014). Porém, raros estudos relatam a atividade antibiofilme destes venenos, área esta que ainda tem muito a ser explorada.

II - REVISÃO DO TEMA_____

II - 1. Biofilmes

O estudo do desenvolvimento microbiano mostra que os micro-organismos são capazes de diferenciação e comportamentos complexos (DAVEY; O'TOOLE, 2000). A ideia de que as bactérias crescem em superfícies na forma de biofilmes foi descrita em muitos sistemas desde que Van Leeuwenhoek, no século XVII, examinou agregados do que ele chamou de “animalculi” oriundos da superfície dos seus dentes (COSTERTON, 1999). Porém, a teoria geral da existência de biofilmes só foi promulgada em 1978 (COSTERTON et al., 1978). A partir deste ponto, muitos estudos vêm relatando a presença de biofilmes compostos de uma ou múltiplas espécies microbianas, nos segmentos ambiental, médico e industrial (DAVEY; O'TOOLE, 2000; LÓPEZ; VLAMAKIS; KOLTER, 2010).

Biofilmes são comunidades bacterianas tridimensionais complexas, que vivem organizadas e aderidas a uma superfície, embebidas em uma matriz exopolimérica composta de polissacarídeos, proteínas e ácidos nucléicos (HETT; HUNG, 2009). A formação do biofilme é um processo dinâmico que engloba várias etapas: 1) pré-condicionamento da superfície por macromoléculas presentes no ambiente; 2) transporte de células planctônicas do meio circundante à superfície; 3) adesão inicial em uma superfície biótica ou abiótica; 4) migração de células formando microcolônias, com sinalização molecular - sistema *quorum sensing*; 5) produção da matriz exopolimérica; 6) maturação e desenvolvimento, com internalização de nutrientes, metabolismo dos mesmos e transporte de resíduos, e; 7) liberação de células planctônicas e agregados bacterianos das camadas mais externas, para subsequente dispersão, multiplicação e colonização de novas superfícies, assim, estabelecendo um equilíbrio dinâmico do biofilme (COSTERTON, 1999; SIMÕES; BENNETTB; ROSAB, 2009) (Figura 1).

O mecanismo de adesão é um processo de duas etapas que inclui uma fase reversível, física instantânea, seguida por uma fase irreversível, molecular e celular tempo-dependente (Figura 1) (KATSIKOGIANNI; MISSIRLIS, 2004). No primeiro estágio da formação do biofilme, a adesão reversível em uma superfície biótica é mediada por adesinas e lectinas através de ligações específicas do tipo receptor-ligante. Em uma superfície abiótica as interações são físico-químicas não específicas (DUNNE, 2002).

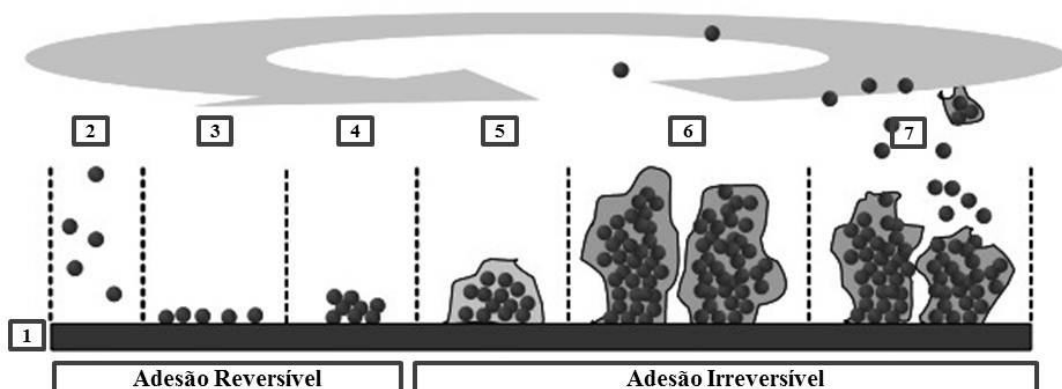


Figura 1: Esquema da formação do biofilme. Adaptado de TRETER e MACEDO (2011).

Na adesão reversível, inicialmente o organismo aproxima-se da superfície propulsionado aleatoriamente (por fluxo de um fluido sobre a superfície através de movimento Browniano ou força gravitacional) ou dirigido por quimiotaxia e motilidade (por flagelos e *pili*). Ao atingir uma proximidade crítica para uma superfície (cerca de 1 nm), a determinação da adesão depende da soma de forças de atração ou repulsão gerada entre as duas superfícies. Estas forças incluem interações eletrostáticas e hidrofóbicas, impedimento estérico, forças de Van der Waals, temperatura e forças hidrodinâmicas. As interações eletrostáticas tendem a favorecer repulsão, porque a maioria das bactérias e superfícies inertes são negativamente carregadas. Já as interações hidrofóbicas têm provavelmente maior influência sobre o resultado da adesão primária (Figura 2). A aderência inicial depende da soma total das interações bactéria/superfície, mas a química de superfície desloca o equilíbrio a favor da adesão, prevendo que as substâncias orgânicas em solução irão concentrar-se próximas de uma superfície e que os micro-organismos tendem a se reunir em ambientes ricos em nutrientes (DUNNE, 2002; PASCUAL, 2002; PAVITHRA; DOBLE, 2008).

A presença de um filme condicionante em uma superfície abiótica deve ser levada em consideração no processo inicial da adesão bacteriana em casos da utilização de dispositivos médicos. O contato de moléculas como albumina, lipídeos, complemento, fibronectina e sais inorgânicos com a superfície de um biomaterial altera suas propriedades e a afinidade do micro-organismo pela superfície

condicionada pode ser bem diferente do que pela superfície nativa, por questões de hidrofobicidade, principalmente (DUNNE, 2002).

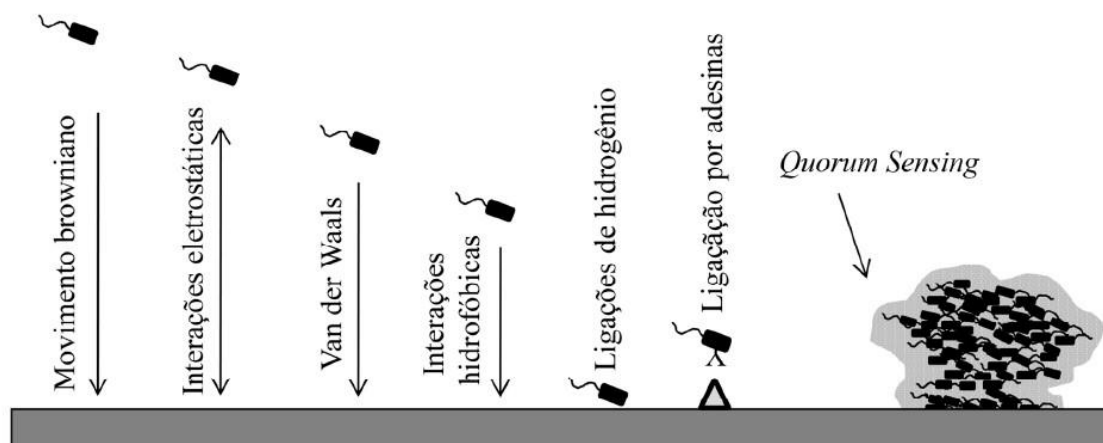


Figura 2: Interações envolvidas na adesão reversível de bactérias planctônicas em uma superfície abiótica. Fonte: TRENTIN; GIORDANI e MACEDO (2013).

Durante a formação de microcolônias, moléculas sinalizadoras chamadas auto-indutores (AIs) são liberadas para o meio extracelular estabelecendo uma comunicação bacteriana célula-célula, o *quorum sensing* (WATERS; BASSLER, 2005). Esta comunicação determina a densidade celular e coordena o comportamento em população, alterando coletivamente a expressão de genes que controlam atividades diretas que são benéficas quando realizadas por grupos de bactérias atuando em sincronia, como a produção de matriz exopolimérica, a formação e a manutenção do biofilme (MACEDO; ABRAHAM, 2009; RUTHERFORD; BASSLER, 2012).

Na adesão irreversível, os micro-organismos fracamente ligados consolidam o processo de adesão através da produção de matriz exopolimérica que complexa com os materiais da superfície e/ou receptores específicos de receptores localizados no *pili*, fímbrias ou fibrilas (DUNNE, 2002; STOODLEY et al., 2002). A matriz exopolimérica imobiliza as células de biofilme e as mantém firmemente ligadas à superfície. Em biofilmes maduros a matriz exopolimérica confere a arquitetura tridimensional em forma de cogumelo, com áreas densas, poros e canais, onde circulam nutrientes e restos metabólicos. Essa matriz protege os organismos contra a dessecação, ação de antibióticos, radiação ultravioleta, ação de células imunes do

hospedeiro, dentre outros (FLEMMING; WINGENDER, 2010). Na maioria dos biofilmes, os micro-organismos representam cerca de 10-25 % massa seca, enquanto que a matriz representa 75-90% (COSTERTON, 1999). Em situações desfavoráveis como perturbações externas, degradação enzimática interna ou programação celular de virulência, ocorre o desprendimento de células planctônicas ou partes menores do biofilme que poderão colonizar outras superfícies (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004; NADELL; XAVIER; FOSTER, 2009)

A adesão e consequente formação de biofilmes bacterianos são processos complexos que envolvem as características da bactéria, da superfície e do ambiente (DAROUCHE, 2001; PAVITHRA; DOBLE, 2008). Múltiplos parâmetros podem influenciar este processo conforme a figura 3.



Figura 3: Interações envolvidas na adesão bacteriana: micro-organismo, ambiente e superfície. Adaptado de TRETER e MACEDO (2011).

II - 2. Infecções associadas a biofilmes

As infecções bacterianas agudas normalmente envolvem bactérias planctônicas e geralmente são tratáveis com antibióticos. No entanto, nos casos em que as bactérias têm sucesso na formação de biofilme no hospedeiro, a infecção frequentemente torna-se crônica (BJARNSHOLT et al., 2013). Na clínica médica, os biofilmes são cada vez mais reconhecidos como importante fator na doença humana, representando mais de 80% das infecções segundo o *US National Institute*

of Health (DAVIES, 2003). Estas infecções podem ser teciduais ou associadas a dispositivos médicos, nas mais variadas regiões do corpo (Figura 4).

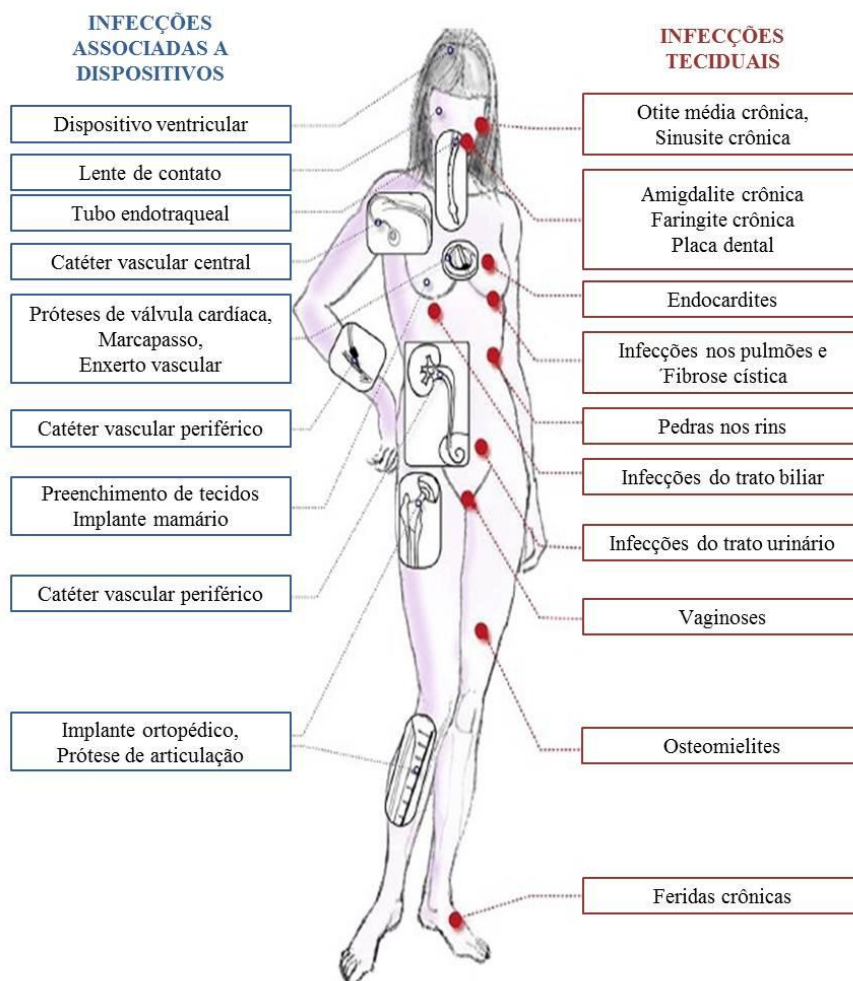


Figura 4: Infecções típicas humanas teciduais ou associadas a dispositivos causadas por biofilmes. Adaptado de HØIBY et al. (2014).

A cronicidade das infecções por biofilme, caracterizada por inflamação persistente e dano tecidual, deve-se à resistência a resposta imune do hospedeiro e aos agentes antimicrobianos (HØIBY et al., 2011). As bactérias nesta estrutura comunitária possuem 10-1000 vezes mais resistência do que quando encontradas em sua forma planctônica (DAVIES, 2003). Vários fatores são sugeridos para explicar a extraordinária resistência das bactérias do biofilme aos antimicrobianos, como: i) o lento crescimento das células das camadas mais internas do biofilme, chamadas células dormentes ou *persisters*, que encontram-se com reduzida taxa metabólica e pouca disponibilidade de oxigênio; ii) baixa penetração de agentes

antimicrobianos, em que a matriz exopolimérica reduz de maneira química ou física a penetração do agente; e, iii) transferência horizontal de genes de resistência ligados à alteração dos alvos e a expressão de bombas de efluxo e enzimas degradadoras ou neutralizadoras (DAVIES, 2003; FUX et al., 2005; MAH; TOOLE, 2001). Em função destes fatores relatados, mesmo em indivíduos com adequadas reações imunes, celular e humoral, as infecções por biofilme raramente são resolvidas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro. O tratamento com antimicrobianos geralmente reverte os sintomas causados pelas células planctônicas liberadas das camadas mais externas do biofilme, porém não o elimina como um todo. Por isso, as infecções por biofilme tipicamente mostram recorrentes sintomas, após ciclos de tratamento, até que a população séssil seja cirurgicamente removida do organismo (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Dados gerais apontam que a incidência de infecções por biofilme é significativa (HØIBY et al., 2014). Estudos demonstram que cerca de 60% das infecções crônicas de feridas estão envolvidas com biofilmes e que aproximadamente de 80% dos >60.000 pacientes com fibrose cística de países ocidentais em desenvolvimento irão desenvolver infecções pulmonares crônicas por biofilmes bacterianos. Para pacientes com próteses ortopédicas a estimativa é que 0,5-2% desenvolverão uma infecção nos primeiros dois anos pós-operatórios. No caso da utilização de cateteres intravenosos, 0,5% dos que são utilizados por dia na unidade de terapia intensiva irão desenvolver infecções da corrente sanguínea (ATS, 2005). Estes índices são bem maiores para cateteres urinários, onde mais de 50% se tornam colonizados nos 10-14 primeiros dias de inserção (HOLA; RUZICKA, 2001; STICKLER, 2008). Ainda, o desenvolvimento de biofilme sobre a superfície de tubos endotraqueais (ETT) está relacionado com o desenvolvimento de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), que ocorre em 9-27% de todos os pacientes entubados (ATS, 2005). Estima-se que a maioria das infecções bacterianas em humanos estão correlacionadas com biofilmes e cerca de 50% das infecções nosocomiais associadas a dispositivos médicos (WU et al., 2015).

Infecções microbianas em implantes médicos representam uma ameaça grave à medicina moderna. A infecção por biofilme é considerada uma das principais causas de falha no implante de biomateriais, pois estes são suscetíveis à colonização bacteriana (VEERACHAMY et al., 2014). A Tabela 1 lista, a incidência

de infecções associadas a biomateriais de diferentes dispositivos e implantes, ao longo de todo o tempo de vida do implante.

Tabela 1: Incidência de infecções associadas a biomateriais (adaptado de BUSSCHER et al., 2012).

Local do implante	Implante ou dispositivo	Incidência de infecção ao longo da vida (%)
Trato urinário Percutâneo	Cateter urinário	33 (por semana)
	Cateter venoso central	2-10
	Marca-passo cardíaco temporário	4
	Cateter curto	0-3
	Cateter de diálise peritoneal	3-5
	Pino de fixação ou parafuso	5-10
	Suturas	1-5
	Prótese de voz	25 (por mês)
	Implante dentário	5-10
	Marca-passo cardíaco	1-7
Subcutâneo	Prótese de pênis	2-5
Tecido mole	Prótese mamária	1-7
	Enxerto de parede abdominal	1-16
	Lentes intraoculares	0.1
Olhos	Lentes de contato	0.1-0.5
	Válvulas cardíacas	1-3
Sistema circulatório	Enxerto vascular	1.5
	Prótese de quadril	2-4
Osso	Prótese de joelho	3-4
	Pino tibial	1-7

A formação de biofilmes em dispositivos pode levar à destruição do tecido, disseminação sistêmica do agente patogênico e disfunção do dispositivo, o que resulta em doença grave e morte (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004). Infecções de implantes têm uma vasta incidência clínica, morbidade e mortalidade, associadas a custos significativos. O aumento do uso de implantes de biomateriais e dispositivos e a crescente expectativa de vida agravam os problemas relacionados com este tipo de infecção (BUSSCHER et al., 2012).

II - 2.1. Bactérias formadoras de biofilmes de importância médica

Os principais micro-organismos responsáveis pela formação de biofilmes em dispositivos médicos são bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus viridans* e *Enterococcus faecalis* e

bactérias gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* e *Proteus mirabilis* (VEERACHAMY et al., 2014) (Tabela 2).

Tabela 2: Principais bactérias formadoras de biofilmes em implantes médicos (adaptado de VEERACHAMY et al., 2014).

Implante médico	Bactérias formadoras de biofilme
Prótese artificial vocal	<i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Rothia dentocariosa</i> <i>Streptococcus sobrinus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Stomatococcus mucilaginous</i>
Prótese artificial de quadril	<i>Staphylococcus</i> Coagulase-negativo <i>Streptococcus</i> β hemolítico <i>Enterococcus</i> sp. <i>P. mirabilis</i> <i>Bacteroides</i> sp. <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> sp. <i>Escherichia coli</i> <i>P.aeruginosa</i>
Prótese articular	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>
Próteses de válvulas cardíacas	<i>Streptococcus viridans</i> <i>Staphylococcus</i> Coagulase-negativo <i>Enterococcus</i> sp. <i>S. aureus</i>
Marca-passos cardíacos	<i>S. aureus</i>
Dispositivo para desvio do líquido cefalorraquidiano	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Enterococcus</i> sp.
Tubo endotraqueal	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>P. aeruginosa</i>
Cateter urinário	<i>S. epidermidis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. mirabilis</i>
Cateter de diálise peritoneal	<i>Streptococcus</i> sp. <i>Staphylococcus</i> sp.
Cateter venoso central	<i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i> <i>E. faecalis</i> <i>K.pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> ,
Lente de contato	<i>P. aeruginosa</i> Cocos gram-positivos
Implante dental	Cocos gram-positivos acidogênicos Bactérias orais anaeróbicas gram-negativas
Próteses implantadas para a disfunção erétil	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>
Implantes ortopédicos	<i>Streptococcus</i> hemolítico <i>Enterococcus</i> sp. <i>P. mirabilis</i> <i>Bacteroides</i> sp. <i>P. aeruginosa</i>

	<i>E.coli</i>
Implantes de mama	<i>S. aureus</i>
	<i>Enterococcus</i> sp.
	<i>S.epidermidis</i>
Dispositivos contraceptivos intrauterinos	<i>Micrococcus</i> sp.
	<i>Enterococcus</i> sp.
	<i>Streptococcus</i> Grupo B

Biofilmes bacterianos podem ser formados por uma ou múltiplas espécies (ELIAS; BANIN, 2012). Tem sido relatada a alta prevalência de biofilmes multiespécies em diversos habitats, incluindo o ambiente médico (RØDER; SØRENSEN; BURMØLLE, 2016). Estudos têm demonstrado a presença de diferentes espécies distribuídas em cateteres urinários (*S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E.coli*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa* e *K. pneumoniae*), feridas crônicas (*Corynebacterium* sp., *Bacteroides*, *Peptoniphilus*, *Fingoldia*, *Anaerococcus*, *Peptostreptococcus* sp., *Streptococcus*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* sp.) e placa dental (*Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Rothia*, *Campylobacter*, *Eikenella*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Selenomonas*, *Treponema*) (YANG et al., 2011). A interação entre várias espécies no biofilme, formando uma comunidade complexa, pode resultar em comportamentos sinérgicos de cooperação e maior resistência às defesas do hospedeiro e a agentes antimicrobianos (ELIAS; BANIN, 2012).

II - 2.1.1. *Staphylococcus* spp.

O gênero *Staphylococcus* compreende 39 espécies, das quais 11 destas possuem duas ou mais subespécies. Este gênero inclui patógenos humanos, divididos em duas categorias: *Staphylococcus* coagulase positivos, como *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos, como *S. epidermidis* (BLAIOTTA et al., 2010). *Staphylococcus* spp. são bactérias comensais, frequentes na superfície da pele e mucosas humanas, reconhecidas como causa mais frequente de infecções associadas a biofilme, com maior probabilidade de infectar qualquer dispositivo médico que penetra essas superfícies (VUONG; OTTO, 2002).

As infecções por *S. aureus* nos EUA representam tempo de internação, incidência de morte e custos médicos duas vezes maiores que outros tipos de

hospitalizações. *Staphylococcus aureus* na forma de biofilmes é causa de várias doenças como: osteomielite, endocardite, feridas e rinosinusite crônicas e colonização de dispositivos médicos (ARCHER et al., 2011). A maioria das doenças causadas por *S. epidermidis* e outros *Staphylococcus* coagulase negativos são de caráter crônico e ocorrem em dispositivos (OTTO, 2012). Estima-se que os custos anuais relacionados às infecções em cateteres por *S. epidermidis* sejam em torno de US\$ 2 bilhões nos Estados Unidos (OTTO, 2009). Em infecções na corrente sanguínea por *Staphylococcus* coagulase negativos originadas por infecções de cateter intravascular estima-se uma incidência de 250.000 casos por ano nos Estados Unidos, com uma taxa de mortalidade de 1-25%, com custos de US \$ 25.000 por episódio e um aumento de mais de sete dias na permanência hospitalar. Em infecções relacionadas com dispositivos do sistema nervoso central por *Staphylococcus* coagulase negativos, a remoção completa do dispositivo infectado e a utilização prolongada de antimicrobianos muitas vezes são necessárias. Casos mais severos como endocardite em prótese de válvula são raros, em comparação com infecções relacionadas a dispositivos, porém, 15-40% ocasionados por *Staphylococcus* coagulase negativos (OTTO, 2012).

O *Nosocomial Infections Surveillance System* reconhece *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos como os patógenos mais frequentemente isolados em pacientes de unidades de terapia intensiva hospitalares, com uma taxa elevada de resistência à metilicina, por aquisição de fatores de resistência genética (plasmídeos) ou por mecanismos não específicos de resistência, dos quais a formação é o mais importante (OTTO, 2008). O impacto gerado pelas infecções nosocomiais por *Staphylococcus* spp., aliado à formação de biofilme conferem a extrema necessidade da busca de moléculas com ação eficaz contra este gênero bacteriano, assim como outros.

II - 2.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é um patógeno gram-negativo oportunista, responsável por cerca de 10% das infecções nosocomiais, que em casos de bacteremia pode apresentar taxa de mortalidade de aproximadamente 40% (JONES et al., 2013). Esta bactéria pode causar pneumonia, infecções crônicas como feridas, otite média prostatite bacteriana e infecções relacionadas a dispositivos médicos

(TOLKER-NIELSEN, 2014). Em especial, indivíduos imunodeprimidos, principalmente aqueles com neutropenia induzida por quimioterapia, pacientes altamente vulneráveis, tais como os que estão em unidade de terapia intensiva sob ventilação mecânica e pacientes com fibrose cística possuem uma maior probabilidade de infecção por *P. aeruginosa* (KERR; SNELLING, 2009). Infecções pulmonares persistentes e recorrentes causadas por *P. aeruginosa*, normalmente acometem pacientes com fibrose cística, cujos pulmões, num estado inflamatório crônico, respondem mal à terapia antimicrobiana. Acredita-se que a falta de eficácia do tratamento é em parte, devido à formação de biofilmes nos pulmões destes pacientes, por causa da hipersecreção de uma camada de muco viscoso nas vias aéreas o que proporciona um ambiente com baixa concentração de oxigênio e também devido à presença de DNA e actina que resulta na necrose dos neutrófilos, proporcionando um ambiente propício ao desenvolvimento de *P. aeruginosa* (MOREAU-MARQUIS; STANTON; O'TOOLE, 2008).

De acordo com *Nosocomial Infections Surveillance System*, *P. aeruginosa* é o terceiro patógeno mais comumente associado a todas as infecções hospitalares adquiridas (FRIDKIN et al., 1999). Vários fatores de virulência estão expressos em *P. aeruginosa*, tais como enzimas (elastases, proteases), toxinas (exotoxina A e exotoxinas S e T), pigmentos (pioverdina e piocianina), o sistema de secreção tipo III (onde a bactéria injeta seus fatores de virulência no citoplasma da célula hospedeira) e a capacidade de formar biofilmes, que permite a sobrevivência em diferentes ambientes (KERR; SNELLING, 2009; TOLKER-NIELSEN, 2014). *Pseudomonas aeruginosa* é intrinsecamente resistente a várias classes de antibióticos e a terapia está se tornando ainda mais problemática devido à resistência adquirida ou mutacional. Uma ampla variedade de mecanismos de resistência foram identificados incluindo bombas de efluxo, enzimas degradadoras de antimicrobianos, como aminoglicosídeo, modificadoras, como β -lactamases e carbapenemases ou mutações que eliminam o alvo molecular do antimicrobiano, como perda da porina OprD (KERR; SNELLING, 2009).

II - 2.1.3. Enterobacteriaceae

A família Enterobacteriaceae é constituída por mais de 40 gêneros de bacilos gram-negativos, com centenas de espécies e subespécies, sendo que poucas

destas são responsáveis pela maioria das infecções em humanos, como *E. cloacae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Yersinia pestis*, *Salmonella entérica*, *Shigella sonnei*, dentre outras. Estas bactérias podem causar uma variedade de doenças, incluindo 30 a 35% de todas as bacteremias, mais de 70% das infecções de trato urinário e infecções intestinais (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). Muitas espécies de *Enterobacter* são patógenos oportunistas hospitalares, incluindo 5% das septicemias adquiridas no hospital, 5% das pneumonias e 4% das infecções do trato urinário nosocomiais, além de 10% dos casos de peritonite pós-cirúrgicas. Dentre algumas infecções causadas por *Enterobacter* sp. tem-se bacteremia, infecções do trato respiratório inferior, da pele, de tecidos moles, do trato urinário intra-abdominais, oculares, endocardite, artrite séptica e osteomielite (NAHER et al., 2014).

São atribuídos vários fatores de virulência à família Enterobacteriaceae como cápsula e variação antigênica, que conferem evasão imune, proteínas, capazes de adquirir ferro do hospedeiro e garantir a sobrevivência bacteriana, endotoxinas, que podem causar choque e levar à morte. Ainda, estudos demonstram a capacidade de algumas destas bactérias, como *K. pneumoniae* (DI MARTINO et al., 2003), *E. coli* (HUNG et al., 2013), *E. cloacae* (THOMPSON et al., 2006), *Enterobacter agglomerans*, *Serratia rubidaea* (NAHER et al., 2014), *S. marcescens* (RICE et al., 2005), *P. mirabilis* (KWIECINSKA-PIRÓG et al., 2014) em formar biofilmes. A emergente resistência entre as Enterobacteriaceae é um problema significativo que requer atenção imediata. A principal resistência está relacionada com a produção de β -lactamases de amplo espectro (ESBL) (PATERSON, 2006), mas outros mecanismos de resistência também estão surgindo, levando à resistência a múltiplas drogas, como é o caso do aparecimento de cepas New Delhi Metallo- β -lactamases resistentes (BONOMO, 2011).

II - 3. Estratégias de combate aos biofilmes bacterianos patogênicos

A resistência apresentada pelas células no biofilme, devido a suas propriedades genéticas e fenotípicas, levam a procura de terapias específicas para erradicar esta causa comum de infecções persistentes. Estudos têm demonstrado diferentes mecanismos capazes de modular a formação de biofilme: 1) inibição da formação de biofilmes; 2) inibição do desenvolvimento e diferenciação da estrutura

dos biofilmes; 3) erradicação de biofilmes formados, e; 4) indução da dispersão do biofilme (MIQUEL et al., 2016; YANG et al., 2012).

II - 3.1. Inibição da formação de biofilmes

A estratégia de inibir a formação de biofilmes objetiva interferir na adesão bacteriana primária a uma superfície biótica ou abiótica, sendo possível interferir nas interações bactéria-superfície ou nas interações bactéria-bactéria (MIQUEL et al., 2016).

As tentativas de impedir as interações bactéria-superfície incluem a inibição do crescimento bacteriano e o bloqueio da adesão bacteriana à superfície. A inibição do crescimento bacteriano pelo uso de agentes bacteriostáticos ou bactericidas (TRENTIN; GIORDANI; MACEDO, 2013). Porém, agentes antibiofilmes bactericidas devem ser muito especificamente dirigidos, pois sua utilização pode alterar a composição dos ecossistemas estabelecidos e danificar a microbiota benéfica humana. Os agentes antibiofilme bactericidas se dividem em naturais e sintéticos (MIQUEL et al., 2016) (Tabela 3).

O bloqueio da adesão bacteriana à superfície, visto que este fenômeno é essencial para a formação de biofilme. Nos últimos anos, uma série de abordagens bioquímicas, físico-químicas e biológicas estão sendo desenvolvidas para reduzir a ligação de bactérias nas superfícies (YANG et al., 2012). As abordagens bioquímicas envolvem o recobrimento de superfícies com agentes antimicrobianos, que imobilizados na superfície podem matar as bactérias formadoras de biofilmes, antes que estas se estabeleçam (KAZEMZADEH-NARBAT et al., 2010; YANG et al., 2012). Outros agentes, que não possuem efeito antimicrobiano, também são utilizados para bloquear a adesão de agentes patogênicos, que ligam-se a superfície de células humanas através de *pili* e formam de biofilme *in vivo* (OKAHASHI et al., 2011; TSUI et al., 2003). As abordagens físico-químicas abrangem o desenvolvimento de superfícies modificadas por meio físico-químico (YANG et al., 2012), com propriedades antiaderente, como aço inoxidável eletropolido (ARNOLD; BAILEY, 2000) ou revestido com carbono (*diamond-like*) hidrofóbico ou hidrofílico (RAULIO et al., 2008). As propriedades antimicrobianas e antiaderente estão sendo combinadas em alguns estudos na concepção de novas superfícies (YUAN et al., 2011). Por fim, as abordagens biológicas referem-se ao estudo da coexistência e

interação de múltiplas espécies vivendo em biofilmes e competindo por substratos, que gera em muitas espécies a capacidade de sintetizar e excretar substâncias (como biosurfactantes, por exemplo) que inibem a formação de biofilme por outras espécies (XAVIER; MARTINEZ-GARCIA; FOSTER, 2009; YANG et al., 2012; ZERAIK; NITSCHKE, 2010).

Tabela 3: Diferentes classes de agentes antibiofilme (adaptado de MIQUEL et al., 2016).

Classes de agentes antibiofilme	
Agentes naturais	Agentes sintéticos
Antimicrobianos	Plasma não térmico
Antiprotzoários	Substâncias fotodinâmicas
Produtos vegetais	Nanopartículas
Bacteriófagos	Modificações topográficas Superfície
Agentes microbianos	Peptídeos e outras moléculas

O impedimento das interações bactéria-bactéria compreende o bloqueio da comunicação celular bacteriana (*quorum sensing*) (BRACKMAN; COENYE, 2015). O *quorum sensing* coordena a expressão de genes de acordo com densidade bacteriana, funcionando como um processo de tomada de decisões para regular a produção de fatores de virulência e estabelecimento da infecção (WU et al., 2015). As bactérias gram-negativas produzem acil-homoserina lactona (AHL), enquanto as bactérias gram-positivas produzem peptídeo autoindutor (AIP), já o sistema auto-indutor-2 (AI-2) é comum aos dois tipos bacterianos (HIRAKAWA; TOMITA, 2013). O *quorum sensing* geralmente oferece três pontos possíveis de interferência: o processo de geração de sinal, a molécula sinal e o receptor sinal (ZUCCA; SCUTERA; SAVOIA, 2011). Até o momento, muitos agentes naturais e sintéticos, como peptídeos e enzimas foram identificados como inibidores de *quorum sensing* (PAN; REN, 2009).

II - 3.2. Inibição do desenvolvimento e diferenciação da estrutura dos biofilmes

Biofilmes jovens são mais suscetíveis à ação de agentes antimicrobianos do que biofilmes maduros (YANG et al., 2012). A maior quantidade de matriz exopolimérica e a maior densidade de células em biofilmes maduros podem atuar

como uma barreira para a difusão de agentes antimicrobianos, induzir o *quorum sensing* e regular a expressão de genes de resistência (ANDERL; FRANKLIN, 2000; BJARNSHOLT et al., 2005; HOYLE; ALCANTARA; COSTERTON, 1992; KIEVIT et al., 2001; SOULI; GIAMARELLOU, 1998). Assim, biofilmes jovens podem ser alvos para a desintegração enzimática ou química da matriz exopolimérica, a interferência em grupos ativos (como *quorum sensing*, captação de ferro e produção de biosurfactantes) e a interferência no metabolismo bacteriano que atua em vários fenômenos, incluindo a formação do biofilme (YANG et al., 2012).

II - 3.3 Erradicação de biofilmes já formados

Um tratamento agressivo e intenso com antimicrobianos é usualmente útil para controlar as exacerbações de infecções crônicas por biofilmes (WU et al., 2015). Geralmente o tratamento é útil, mas não totalmente eficaz, pois é difícil de alcançar *in vivo* a concentração mínima de antimicrobiano necessária para erradicação do biofilme maduro (HENGZHUANG et al., 2011; HØIBY, 2011; HØIBY et al., 2010).

Apesar das dificuldades de tratamento, alguns estudos propõem estratégias para erradicação de biofilmes. Dentre estas, tem-se a pesquisa de novos agentes antibiofilmes, como sideróforos conjugados aos antimicrobianos, que podem agir como “Cavalos de Tróia”, como é o caso da ação concomitante do conjugado desferrioxamina-gálio (DFO-Ga) e da gentamicina que provocam uma maciça erradicação de biofilmes maduros de *P. aeruginosa* (BANIN et al., 2008). Diversos peptídeos antimicrobianos (AMPs) também são propostos como promissores agentes antibiofilme, onde é sugerida a utilização em conjunto com antimicrobianos, levando a um aumento da atividade destes, ou seja, um efeito sinérgico que pode reduzir despesas, efeitos secundários tóxicos e a propagação da resistência antimicrobiana e ainda, aumentar a atividade de antimicrobianos contra cepas multiresistentes (PLETZER; COLEMAN; HANCOCK, 2016).

A existência de microcolônias densas embutidas na matriz exopolimérica prejudica a ação dos antimicrobianos, sendo que o aumento da penetração destes medicamentos no biofilme é uma interessante estratégia de erradicação (YANG et al., 2012). Estudos relatam que a atividade de enzimas como a DNase e alginato liase melhoram a atividade de certos aminoglicosídeos na redução de biofilmes de

P. aeruginosa (ALIPOUR; SUNTRES; OMRI, 2009), bem como um lipopeptídeo biosurfactante, produzido por *Bacillus licheniformis* pode melhorar a eficácia dos antimicrobianos no tratamento de *E. coli* (RIVARDO et al., 2011) e a utilização de inibidores da bomba de efluxo podem abolir a formação do biofilme ou melhorar a atividade antimicrobiana contra este (KVIST; HANCOCK; KLEMM, 2008).

Ainda, alguns fagos são sugeridos como alternativas aos antimicrobianos para o tratamento de biofilmes, pois possuem enzimas degradantes de polissacarídeos que podem destruir rapidamente a integridade dos biofilmes (SUTHERLAND et al., 2004). Carson e colaboradores (2010) reportaram que bacteriófagos líticos poderiam erradicar biofilmes já estabelecidos de *P. mirabilis* e *E. coli* e que o revestimento de cateteres com bacteriófagos líticos poderia impedir a formação de biofilme em biomateriais.

II - 3.4 Indução da dispersão do biofilme

A dispersão do biofilme depende de fatores ambientais, como oxigênio e concentração do substrato. Esta estratégia de combate ao biofilme pode se dar por ação nas vias de regulação genética e transdução de sinal pela modulação da expressão de certos genes responsáveis pela dispersão, ou ainda, pela utilização de agentes que induzem este fenômeno que irão agir principalmente nos componentes da matriz exopolimérica (YANG et al., 2012).

O uso de substâncias capazes de destruir a integridade física da matriz exopolimérica é uma abordagem antibiofilme atraente, pois a perda da barreira altamente protetora do biofilme expõe as células microbianas sésseis aos antibióticos e ao sistema imune do hospedeiro (KAPLAN, 2009). Alguns estudos demonstram a capacidade da dispersina D em degradar biofilmes estafilocócicos (CHAIGNON et al., 2007) e o uso de bacteriófagos na redução da densidade de biofilme de *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* (FU et al., 2010).

II - 4. Venenos como fonte de moléculas ativas

Como abordado nos tópicos anteriores, a alta incidência de infecções bacterianas patogênicas em humanos, agregada ao desenvolvimento de resistência à antibioticoterapia e à formação de biofilmes, que dificulta e torna o tratamento com

antimicrobianos ineficaz, motivam pesquisas para a resolução desta problemática. Devido à diminuição do número de novos medicamentos aprovados nos últimos anos nesta área, a indústria farmacêutica procura alternativas para desenvolver medicamentos inovadores.

Os venenos animais representam uma fonte inexplorada de uma vasta quantidade de moléculas biologicamente ativas candidatas ao desenvolvimento de novas terapias (BAILEY; WILCE, 2001). A evolução levou uma grande diversidade de animais a produzir veneno e desenvolver recursos fisiológicos para a sua liberação ou injeção (presas, arpões, ferrões, dentre outros) (FRY et al., 2009). De maneira geral, para os animais venenosos, a intenção dos venenos é atingir a corrente sanguínea da presa/intruso, modular os sistemas cardiovascular ou neurológico, causando paralisia, morte e necrose (REEKS; FRY; ALEWOOD, 2015), iniciando a digestão prévia à ingestão (LEWIS et al., 2012; UNDHEIM; FRY; KING, 2015) ou, em algumas situações, promovendo a comunicação social, como observado em formigas (AILI et al., 2014).

Venenos consistem em misturas complexas de sais, moléculas orgânicas, tais como poliaminas, aminoácidos, neurotransmissores, proteínas, enzimas, peptídeos bioquimicamente ativos e substâncias de baixo peso molecular (BOGIN, 2005; FRY et al., 2009). As toxinas isoladas a partir de venenos exibem efeitos disseminados em certos alvos, como enzimas, componentes de membranas e canais iônicos específicos (BAILEY; WILCE, 2001) e têm sido usadas há muito tempo como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos terapêuticos devido à sua elevada seletividade por alvos moleculares. Porém, apesar do grande número de estudos sobre o uso de compostos derivados de animais para o desenvolvimento de novos fármacos, os casos bem sucedidos foram poucos ainda (ZAMBELLI et al., 2016).

O Captopril®, é um exemplo clássico de medicamento originário de veneno de serpente (*Bothrops jararaca*) (FERREIRA, 1965). É um medicamento anti-hipertensivo, inibidor da enzima de conversora da angiotensina (ECA), aprovado no início dos anos 80 pelo FDA (SMITH; VANE, 2003). Em 1968, os estudos realizados pelo Dr. Sergio Henrique Ferreira (Universidade de São Paulo, USP, SP), um pós-doutorado da época e o Dr. John Vane (Instituto de Ciências Médicas Básicas da Universidade de Londres), renderam um Prêmio Nobel de Medicina, mostrando que

os peptídeos obtidos do veneno da serpente *Bothrops jararaca* foram capazes de inibir a ECA (BRYAN, 2009). Este medicamento é comercializado e vastamente utilizado ainda nos dias atuais (CALVETE et al., 2009).

De 2000 a 2013, aproximadamente 1453 novos medicamentos foram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA (KINCH et al., 2014), mas apenas alguns medicamentos foram derivados ou inspirados em toxinas ou venenos de animais. Além destes já aprovados para a comercialização, outros compostos estão em estudos clínicos de fase I, II e III, pré-clínicos e experimentais (Tabela 4):

Tabela 4: Compostos derivados de venenos aprovados pelo FDA ou com potencial para a aprovação (adaptado de ZAMBELLI et al., 2016).

Fonte	Nome	Alvo	Aplicações	Fase
Caramujo marinho	ω -conotoxin MVIIA	Inibidor Cav2.2	Dor	FDA-Aprovado
Serpente	Eptifibatide	Receptores GPIIb/IIIa integrina	Síndrome coronariana aguda	FDA-Aprovado
Serpente	Tirofiban	Receptores GPIIb/IIIa integrina	Síndrome coronariana aguda	FDA-Aprovado
Mostro de Gila	Exenaide	Receptor GLP ^a 1	Diabetes tipo II	FDA-Aprovado
Escorpião	Chlorotoxin	Canais de Cl ⁻ , Annexin 2	Câncer	FDA-Aprovado
Serpente	Crotoxin	Desconhecido	Câncer	Fase clínica I
Abelha	Melitin	Rompimento de membrana	Hepatite	Fase clínica II
Anêmona marinha	Shk-192	Inibidor Kv1.3	Doença autoimune	Fase clínica Ib - Ila
Serpente	Cenderitide	Receptor GCb ativador	Insuficiência cardíaca	Fase clínica II
Serpente	RPI-MN	Antagonista nACh	Infecções virais	Fase clínica I
Serpente	RPI-78M	Antagonista nACh	Myasthenia gravis e esclerose	Fase clínica II
Serpente	Agkistrodon	Enzima semelhante à trombina	Controle de sangramento	Fase clínica II
Serpente	Crotalphine	Endogenous opioids Pain	Dor	Pré-clínica
Carrapato	Ambliomin-X	Dineína e proteassoma	Câncer	Pré-clínica
Aranha	Ph \square 1 \square	Inibidor Cav2.2	Dor e cistite	Experimental
Centopeia	μ -SLPTX-Ssm6a	Inibidor Nav1.7	Dor	Experimental
Serpente	Mambalgina	Inibidor ASICd	Dor	Experimental
Aranha	PcTx1	Inibidor ASIC1ad	Acidente vascular encefálico	Experimental
Aranha	PnTx2-6	Ativação de Óxido nítrico e cGMP	Disfunção erétil	Experimental

Compostos oriundos de venenos têm estimulado muitos projetos de descoberta de novos medicamentos, alguns com sucesso notável (HARVEY, 2014). Venenos e toxinas animais são extremamente potentes, pois muitas vezes têm interações muito específicas com alvo molecular no organismo e assim, podem ser importantes desenvolvimento de novas droga e também como ferramentas no estudo de receptores, canais iônicos e enzimas (ZAMBELLI et al., 2016).

II - 4.1 Peptídeos oriundos de venenos animais com potenciais aplicações farmacêuticas

Os peptídeos estão entre as moléculas orgânicas que constituem os venenos. Em geral, as toxinas peptídicas são pequenas com cerca de 8-70 aminoácidos e sintetizadas nos canais das presas dos animais venenosos (BOGIN, 2005). Uma vasta quantidade de toxinas peptídicas são utilizadas para captura de presas e defesa. Estes peptídeos são dirigidos contra uma grande variedade de alvos farmacológicos, tornando-os fonte inestimável de ligantes para estudar as propriedades desses alvos em diferentes paradigmas experimentais (LEWIS; GARCIA, 2003).

Os peptídeos de veneno têm despertado interesse particular devido à sua atividade no sistema nervoso (bloqueadores ou agonistas de canais iônicos, transportadores ou receptores) ou em membranas (antibacterianos e hemolíticos) (KAAS; CRAIK, 2015). Muitos destes têm sido utilizados *in vivo* para estudos de prova de conceito ou ao desenvolvimento pré-clínico ou clínico para o tratamento de dor, diabetes, esclerose múltipla e doenças cardiovasculares (LEWIS; GARCIA, 2003).

Vários estudos relatam a atividade antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária e antiviral) de peptídeos oriundos das mais diversas fontes de venenos, como de formigas, abelhas, centopeias, caracóis, escorpiões, serpentes, aranhas e vespas. Estas atividades são descritas no Capítulo 1 desta tese.

Os dados presentes na literatura relatando a alta diversidade de moléculas oriundas de venenos com potencial atividade farmacológica dão origem à curiosidade de investigar a atividade destas moléculas contra biofilmes bacterianos, com a aplicação de testes que envolvem as diferentes estratégias de combate.

III – OBJETIVOS

III - 1. Objetivo geral

- A presente tese tem como principal proposta avaliar diferentes venenos e análogos sintéticos como fonte de moléculas contra biofilmes bacterianos patogênicos.

III - 2. Objetivos específicos

- Propor síntese de peptídeos ativos com base em revisão bibliográfica e alinhamento computacional de peptídeos oriundos de venenos de diferentes animais, com atividade antimicrobiana;
- Avaliar as atividades antibacteriana, antif formação e erradicação de biofilme, de análogos sintéticos de peptídeos de venenos de serpentes com atividade antimicrobiana relatada na literatura;
- Avaliar a possível citotoxicidade e capacidade hemolítica dos análogos sintéticos testados;
- Avaliar as atividades antibacteriana, antif formação e erradicação de venenos frente bactérias patogênicas formadoras de biofilme, gram-positivas e negativas;
- Realizar fracionamento bio guiado dos venenos de serpente visando à purificação e identificação de compostos ativos contra biofilmes bacterianos patogênicos.

IV – CAPÍTULO 1 - Animal venom peptides: potential for new antimicrobial agents

Manuscrito publicado no periódico **Current Topics in Medicinal Chemistry**.

REVIEW ARTICLE

Animal Venom Peptides: Potential for New Antimicrobial Agents

Muriel Primon-Barros^a and Alexandre José Macedo^{a,b,*}^aFaculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ^bCentro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

ARTICLE HISTORY

Received: October 29, 2015
Revised: March 31, 2016
Accepted: April 05, 2016DOI: 10.2174/1568026616666160930
151242

Abstract: Microbial infections affect people worldwide, causing diseases with significant impact on public health, indicating the need for research and development of new antimicrobial agents. Animal venoms represent a vast and largely unexploited source of biologically active molecules with attractive candidates for the development of novel therapeutics. Venoms consist of complex mixtures of molecules, including antimicrobial peptides (AMPs). Since the discovery of AMPs, they have been studied as promising new antimicrobial drugs. Amongst the remarkable sources of AMPs with known antimicrobial activities are ants, bees, centipedes, cone snails, scorpions, snakes, spiders, and wasps. The antimicrobial tests against bacteria, protozoans, fungi and viruses using 170 different peptides isolated directly from crude venoms or cDNA libraries of venom glands are listed and discussed in this review, as well as hemolytic activity. The potential of venoms as source of new compounds, including AMPs, is extensively discussed. Currently, there are six FDA-approved drugs and many others are undergoing preclinical and clinical trials. The search for antimicrobial “weapons” makes the AMPs from venoms promising candidates.

Keywords: Microbial infections, venoms, antimicrobial peptides, antibacterial, antiprotozoal, antifungal, antiviral, hemolytic activity.

INTRODUCTION

Due to the declining number of new drugs approved in the recent years, the pharmaceutical industry must now look for alternatives to develop innovative drugs. In this context, Vlieghe *et al.* [1] points the peptide-based drug is a serious alternative to overcome this demand. Interestingly, biopharmaceutical therapeutics is constantly increasing and an unexpected high number synthetic therapeutic peptides (hundreds) have reached the market and are nowadays recovering the attention of scientists and companies, essentially because peptides present a serie of advantages regarding specificity and affinity [1,2]. In this context, antimicrobial peptides (AMPs) spark interest in pharmacological applications. Studies of AMPs activities include tests against different species of microorganisms, as well as the evaluation of mechanisms of activity, cytotoxic effect upon erythrocytes, and eukaryotic cells [3]. Other research areas explore the role of AMPs in innate immunity, intracellular signaling, like novel antitumor agents, and other functions [3,4]. On the other hand, possess a number drawback which must be enhanced, mainly concerning its stability, bioavailability, and route of administration (generally have to be injected). Since

the discovery of AMPs, they have been studied as a promising source in the development of new drugs [5]. Until 2015 were 2271 publications in the Web of Science databank, using “antimicrobial peptides” and “2015” as keywords and 2619 AMPs from six kingdoms in the Antimicrobial Peptide Database (APD) website (<http://aps.unmc.edu/AP>) [6]. Many of these AMPs present in the APD were isolated from different venomous animals.

Antimicrobial peptides are natural small molecules widely distributed and produced by bacteria, yeasts, protozoan, algae, plants, mammals, reptiles, insects, and other organisms. These organisms recruit their AMPs as antimicrobial defense mechanisms or as part of the innate or adaptive immune system [3]. The AMPs have characteristics as small size (< 100 amino acids residues), cationic charge (pI 8.9–10.7), heat stability (100 °C, 15 min), amphipathic character (with both hydrophobic and hydrophilic domains), and diversity based on their structural properties [7,8]. Currently, the AMPs described in eukaryotic organism are classified in four major groups: 1) amphipathic α -helical; 2) β -sheet; 3) β -hairpin or loops, and; 4) extended AMPs [9]. The AMPs mode of action is rather complex and diverse, and beyond the well known membrane destabilization (due to interaction with the negatively charged structures and hydrophobic fatty acid chains found on microbial membranes [8]) and apparently bacterial cell lysis, nowadays researchers are taking in account the action of antimicrobial fragments from intact proteins and proteins with direct antimicrobial activity [5].

*Address correspondence to this author at the Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; Tel: +55-513-308-5354; Fax: +55-513-308-5354; E-mail: alexandre.macedo@ufrgs.br

Microbial infections affect people worldwide, causing diseases with significant impact on public health. The increasing emergence of bacteria resistant to conventional antibiotic treatments is alarming [10]. Worse yet, biofilm formation in most chronic infections exhibits much higher antibiotic/antifungal resistance levels (up to 1000-fold), when compared with planktonic mode of life [11]. Diseases caused by protozoans, such as malaria, for instance, have led to millions of deaths every year. Pesticide-resistant insects and drug-resistant parasites are relevant obstacles in traditional approaches for malaria treatment and control [12]. By the end of 2013, about 35 million people were living with the human immunodeficiency virus (HIV) [13]. To date no effective vaccine or treatment to eliminate this fast-spreading pandemic virus has been discovered [14]. Along with this fact, opportunistic fungal pathogens could infect immunocompromised humans due to AIDS, organ transplants or cancer therapy. Prevalence of fungal infections has increased dramatically in recent decades, while only a few classes of antifungal agents provide limited treatment options [15]. These factors clearly indicate the need for research and development of new antimicrobial agents as a strategy to control and treat infections in general, in order to decrease transmission and mortality.

Nowadays animal venoms represent a vast and largely unexploited source of biologically active molecules with attractive candidates for the development of novel antimicrobial therapeutics and molecular probes of target molecules [16]. Evolution has led to a broad diversity of animals that developed the capacity to produce venom, such as snakes, lizards, scorpions, spiders, centipedes, ticks, leeches, cone snails, sea anemones, jellyfish, fish, cephalopods, echinoderms, several insect orders (such as ants, bees, wasps), and even some mammals (platypus, shrews, vampire bats) [17–19]. In the same way, there are many types of apparatus dedicated to deliver venom, including fangs or modified teeth, barbs, beaks, harpoons, nematocysts, spines, sprays, stingers, pinchers, proboscises, and spurs [17], which target prey, predators, competitors or microbial pathogens [20,21]. Generally, venoms reach the bloodstream, modulating muscles, cardiac or neurological systems, causing paralysis, death, necrosis [22], promoting extra-oral digestion [18,23] or, in some situations such as observed in ants, are used for social communication [20]. Venoms consist of complex mixtures of salts, organic molecules such as polyamines, amino acids, neurotransmitters, proteins, biochemically active enzymes, peptides and low molecular weight substances [17,24]. The toxins isolated from venoms exhibit widespread effects on targets such as specific ion channels, enzymes and membrane components [16]. In general, peptide toxins are small with about 8-70 amino acids and synthesized in the venomous ducts of venomous animals [24].

Amongst the remarkable sources of venom peptides the venoms of ants, bees, centipedes, cone snails, scorpions, snakes, spiders, and wasps were chosen to be part of this review, as shown in Fig. (1), by present antimicrobial activities in tests against bacteria, protozoans, fungi and viruses. The hemolytic activity against erythrocytes was also shown in the tables indicating toxicity of AMPs tested. Despite all attempts made by international recognized institutions to

standardize units and procedures, the scientific literature, unfortunately, still uses a miscellaneous of methodologies. In this sense, all these antimicrobial activities, as well as hemolytic activity were listed and discussed maintaining the original data information from references cited, and to make easier the comparisons, units were transformed, when necessary, to μM and presented in parentheses. We selected only peptides isolated directly from crude venoms or cDNA library of venom glands and was used the Antimicrobial Peptide Database (APD) website to confer the sequences cited. Peptides from skin frog secretions, spider and scorpion haemocytes, analogues or another kind of derivative peptides were not listed.

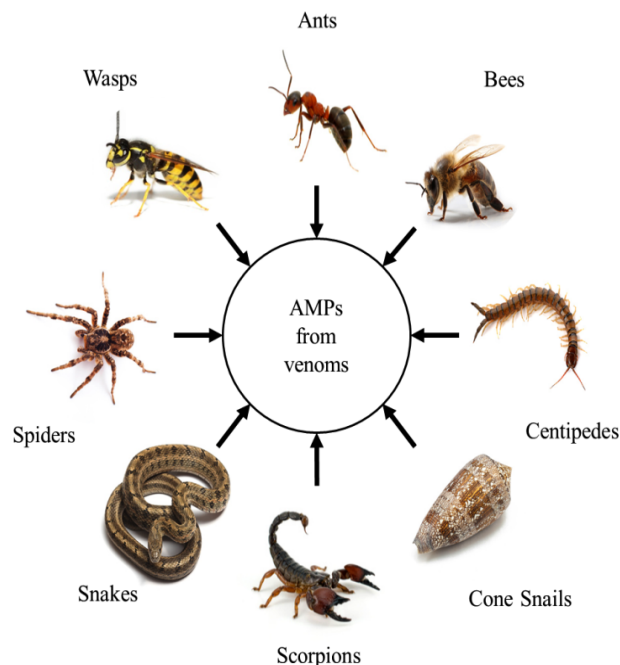


Fig. (1). Scheme of peptides from venomous animals.

ANTS

With respect to venomous animals, ants (family Formicidae) are the most abundant organisms, belonging to a diverse taxonomical group with ~13000 extant species divided into 21 subfamilies [20]. In tropical rainforests, ants represent between 15-20% of the total animal biomass [25]. The ant venom is stored in a reservoir linked with a delivery apparatus: the stinger of the base abdomen that can release 130 μg of venom. The venom is used for predation, individual or colony defense, and social communication [20,26]. Proteins, enzymes, peptides, formic acid, alkaloids, hydrocarbons, and biogenic amines compose ant venoms [20]. Among other venomous animals, ants are poorly studied, mainly because of the small amount of venom that can be collected [27]. Currently, 72 ant venom peptides, from 11 ant species, have been fully sequenced [20], and few reports about the biological activity exist. Other studies include, modulation of voltage-gated sodium (NaV) channels to decrease pain, insecticidal, antiinflammatory, hypolipidemic and antimicrobial activities [20,26,28].

Immediately after immobilization, the prey is taken to the nest, with a potential risk of bacterial, fungal or viral infec-

tions that may affect the survival of ant colonies [26]. Ant venoms are a rich source of antimicrobial molecules that act as a defense system to protect the colonies [29]. The peptides from ant venoms with antimicrobial activities are listed in Table 1. Orivel *et al.* [26] described the antibacterial and insecticidal effects of ponerins from the venom of the arboreal ponerine ant, *Pachycondyla goeldii*, now reclassified as *Neoponera goeldii* [30]. In that study, 30 µg/µL of *P. goeldii* crude venom showed strong activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, which led to the characterization of 15 novel peptide sequences classified into three families named ponericin G, W, and L. Ten of these ponerins were synthesized, tested and shown to be active against 25 different species of bacteria and yeast at a concentration of 0.4-0.5 mM using the disc diffusion method. Insecticidal and hemolytic activities were also evaluated, and the results of this work suggest that the venom may serve to protect against internal pathogens arising from alimentation. Bicarinalin a 20 amino acid residues peptide identified from *Tetramorium bicarinatum* ant and a synthetic replicate of the peptide sequence was tested against *S. aureus* and *Staphylococcus xylosum* with antibacterial activity using 6.3 and 1.3 µg/mL doses, respectively. At low concentrations, bicarinalin showed only a weak hemolytic effect on human erythrocytes (<10%) [29]. Cologna *et al.* [31] carried out a peptidomic comparison and characterization of the major components of the venom of the giant ant *Dinoponera quadricipes* collected in four different areas of Brazil. Using 5 mM in the disc diffusion test, the peptides Dq-3162 and Da-3177 were effective against six strains of bacteria, two yeasts, and one fungus, and peptide Dq-3105 was effective against *E. coli* only. Pluzhnikov *et al.* [27] tested crude venoms from three poneromorph ant species (*Ectatomma quadridens*, *E. tuberculatum* and *Paraponera clavata*) to evaluate growth inhibition of Gram-positive and Gram-negative bacteria. The venom of *E. quadridens* and its peptide fraction showed antibacterial action. Subsequently three linear antimicrobial peptides were isolated and tested (ponericin-Q42, ponerin-Q49, and ponerin-Q50), and were shown to be active against *Arthrobacter globiformis* and *E. coli* at concentrations between 0.2 and 3.5 µM. Furthermore, ponerin-Q42 was active against *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* at 0.6 and 10 µM, also presenting cytolytic activity to human erythrocytes and chronic myelogenous leukemia K562 cells at concentrations of 2.5 and 5.1 µM. Also, it has weak toxic activity against flesh fly larvae, with lethal dose 50% (LD₅₀) of ~105 µg/g.

Pilosulin 1 was cloned and characterized from the venom of Australian *Myrmecia pilosula* jumper ant [32], and represented a potent cytotoxic molecule with unknown biological functions [33]. Zelezetsky *et al.* [34] showed the promising antimicrobial activity of P1 and P2, N-terminal pilosulin1 fragment and modified fragment, respectively against many different strains. Pilosulin 2 was obtained by cDNA sequencing, and is not observed in native ant venom [35]. Pilosulin 3 was identified by Davies *et al.* [36] as the most abundant peptide found in native venom whose biological activity had not been described. Inagaki *et al.* [37,38] obtained pilosulin 3, 4 and 5 using cDNA clones from homogenized adult ants (not from venom), and showed antimicrobial activities of

these compounds. Upon further structural investigations Inagaki's 'Pilosulin 3' was renamed Pilosulin 3b [35,38].

The huge unexplored potential from ant venoms is clear, since just a few species (out of ~13,000) have been studied thus far. One of the bottlenecks is the low amount of venom per animal, but due to improvement of sensitivity and resolution, especially in proteomics approaches linked to mass and NMR spectrometry, new important contributions are arising, as pointed above.

BEES

A major group of the order Hymenoptera is composed of bees (superfamily Apoidea), with about 17,500 species that are important pollinators of both natural vegetation and crops. Also, certain kinds of bees produce useful compounds, especially honey and wax, and are responsible for allergies by sting [19,39]. Between 50 µg and 140 µg of bee venom is delivered by a bee sting [19]. Bee venoms are produced in a gland in the abdominal cavity, and is a unique weapon in the animal kingdom, allowing bees to defend their hives against predators and external threats [40]. The mixture that composes bee venom includes the enzymes phospholipase A₂ (PLA₂) and hyaluronidase, amines, lipids, carbohydrates, free amino acids, non-peptide components such as histamine, dopamine, and norepinephrine, besides a variety of different peptides that are extensively studied for use as potential pain relievers, their potential role in allergic disorders, cancer treatment, neurological, autoimmune, and inflammatory diseases, and antimicrobial applications against several human and animal pathogens as included in Table 2 [40-43].

Pioneering studies carried out in 1941 and 1967 reported antimicrobial activity of bee venom and melittin, respectively, against a broad spectrum of bacteria, including penicillin-resistant *S. aureus* [44]. Melittin is the major component of bee venom from *Apis mellifera* (40-48% w/w). This 26 amino acid amphipathic α -helical peptide is extensively studied with respect to potential actions against cancer cells, viruses, protozoa, and bacteria [41,45,46]. After the report published by Fennell *et al.* [44], some studies showed melittin activity against a range of different bacterial strains and began to be used as a control peptide from venom [47,48]. Melittin antiviral activity has been reported to inhibit replication of arenavirus Junin virus, herpes simplex virus type 1 and 2 (VSV-1 and HSV-2) at very low concentrations (0.86-2.05 µM) [49]. Moreover, the activity against the HIV virus has been reported. Using 0.9 µM of melittin, acutely HIV-infected cells were suppressed, and the replication of HIV was suppressed by interfering with host cell-directed viral gene expression [45]. Tests evaluating the capacity of a wide range of antimicrobial peptides (AMPs) targeting the first 24 hours of malaria sporogonic stage development within the mosquito, without affecting mosquito fitness showed that melittin was active against *Plasmodium berghei* ookinetes and *Plasmodium falciparum* gametocytes using 0.6 and 50 µM, respectively [46]. A significant number of structure-function studies have been carried out to clarify the molecular mechanisms of the hemolytic and antimicrobial activities of melittin [50].

Table 1. Source, sequence and microorganism species of peptides from ant venoms with antimicrobial activity.

Ants								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin G1	GWKDWAKKAGGWLKKKGPG-MAKAALKAAMQ	Bacteria	<i>A. faecalis</i> <i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>F. meningosepticum</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i> <i>Y. enterocolitica</i>	0.4-0.5 mM (400-500 µM)	Disc diffusion	(-)	[26]
	Pornecerin G3	GWKDWLNKGKEWLKKKGPG-IMKAALKAATQ	Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin G4	DFKDWMTAGEWLKKKGPGIL-KAAMAAAT	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 µM)	Disc diffusion	(-)	[26]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin G6	GLVDVLGKVGGLIKLLP	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>F. meningosepticum</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 µM)	Disc diffusion	(-)	[26]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				

(Table 1) contd....

Ants								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin L2	LLKELWTKIKGAG-KAVLGKIKGLL	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>F. meningosepticum</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 μ M)	Disc diffusion	(-)	[26]
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin W1	WLGSALKI-GAKLLPSVVGLFKKKKQ	Bacteria	<i>A. faecalis</i> <i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>F. meningosepticum</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 μ M)	Disc diffusion	(+) 0.4-0.5 mM (400-500 μ M)	[26]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Pornecerin W3-desK	GIWGTAKIGI-KAVPRVISMLKKKKQ	Bacteria	<i>A. faecalis</i> <i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 μ M)	Disc diffusion	(+) 0.4-0.5 mM (400-500 μ M)	[26]
	Pornecerin W4	GIWGTALKWGVKLLPKLVGM-AQTKKQ	Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				

(Table 1) contd....

Ants								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Ponericerin W5	FWGALIKGAAK-LIPSVVGLFKKKQ	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>F. meningosepticum</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 µM)	Disc diffusion	(+) 0.4-0.5 mM (400-500 µM)	[26]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				
<i>Pachycondyla goeldii</i>	Ponericerin W6	FIGTALGISAIPAIVKLFK	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. faecalis</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. sanguinis</i>	0.4-0.5 mM (400-500 µM)	Disc diffusion	(+) 0.4-0.5 mM (400-500 µM)	[26]
<i>Ectatomma quadridens</i>	Ponericin-Q42	FWGAVWKILSKVLPHPGTVK-WLQEKV	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	0.2 µM 0.6 µM 0.6 µM 10 µM	MIC	(+) 2.5 µM	[27]
<i>Ectatomma quadridens</i>	Ponericin-Q49	FWGALVAGLAPKVAIGIK-WAINKKG	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>E. coli</i>	0.6 µM 2.5 µM	MIC	NT	[27]
<i>Ectatomma quadridens</i>	Ponericin-Q50	FWGALFKTVAKV-VAPFVPDIVKWVQEKV	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>E. coli</i>	1.25 µM 3.5 µM	MIC	NT	[27]
<i>Tetramorium bicarinatum</i>	Bicarinalin	KIKIPWGKVKDFLVGGMKAV	Bacteria	<i>S. aureus</i> <i>S. xylosus</i>	6.3 µg/mL (2.4 µM) 1.3 µg/mL (0.5 µM)	MIC	(+) 0.72 mg/mL (0.27 µM)	[29]
<i>Dinoponera quadriceps</i>	Dq3104	GLKDWWNKHKDKIVEVVKDS-GKAGLNAA	Bacteria	<i>E. coli</i>	5 mM (500 µM)	Disc diffusion	NT	[31]
<i>Dinoponera quadriceps</i>	Dq3162	GLKDWWNKHKDKIVEV-VKEMGKAGLNAA	Bacteria	<i>B. amyloliquefaciens</i> <i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i>	5 mM (500 µM)	Disc diffusion	NT	[31]
	Da3177	GLKDWWNKHKDKI-IDVVKEMGKAGLQAA	Yeast	<i>S. cerevisiae</i>				
			Fungi	<i>D. mucilaginis</i> <i>C. cucumerinum</i>				

(Table 1) contd....

Ants								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Myrmecia pilosula</i>	Pilosulin 1	GLGSVFGRLARILGRVIP-KVAKKLGPKVAKVLPKVMK-EAIPMAVEMAKSQEEQQPQ	Bacteria	<i>C. freundii</i> <i>E. coli</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. aureus</i> MRSA <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. maltophilia</i> <i>S. simulans</i>	2 μ M 4 μ M 2 μ M 2 μ M 0.5 μ M 4 μ M 2 μ M 3 μ M 2 μ M 2 μ M 2 μ M 2 μ M	MIC	(+) 10 μ M	[34]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	>4 μ M			

Melectin was the first antimicrobial component found in solitary bee *Melecta albifrons* venom by Cerovsky *et al.* [51]. The peptide was active against *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* at concentrations ranging from 0.8 to 18.5 μ M. Analogues were synthesized and tested, the low ability to cause hemolysis, the structure and the mast cell degranulating activity were also verified. The following year, three pentadecapeptides were found and named lasioglossins (LL-I, LL-II and LL-III) of the eusocial bee *Lasioglossum laticeps* [52] that were active against the same bacterial strains at similar concentrations (0.7-18.7 μ M) as mentioned above. Moninkova *et al.* [53-55] isolated the venom peptides: halictines (HAL-1 and HAL-2), of the eusocial bee *Halictus sexcinctus* [53]; cyclic lasiocepsin, of the eusocial bee *Lasioglossum laticeps* [54]; and macropin, of the solitary bee *Macropis fulvipes* [55]. After, Cujova *et al.*, isolated 3 panurgines (PGN-1 and two cyclic peptides, PGN-K and PGN-R), of communal bee *Panurgus calcaratus* venom [56], and also codesaine of solitary bee *Colletes daviesanus* venom [57]. All these new peptides were active against different Gram-negative and Gram-positive bacterial strains. The last four works were tested against the fungus *Candida albicans*.

In general, bee venoms are a potential source of new peptides with antimicrobial activity, but the notable hemolytic activity presented by some of these peptides could limit future applications. In this sense, all these studies show the systematic structural modification of these native peptides and synthesis of analogs that may have therapeutic application with lower cytotoxicity.

CENTIPEDES

The class Chilopoda, or centipedes, comprises about 3,500 species of predatory arthropods characterized by a modification of the first pair of walking legs into venomous appendages known as poison claws, used to capture prey, like insects, spiders, snails, and amphibians [23,58]. Centipede venom is composed of enzymes, which act as adjuvants in extra-oral digestion, as metalloproteases, phospholipases A2, serine proteases, besides non-enzymatic proteins like CAP proteins, which are the major components of centipede

venom, and peptides, whose most part are low molecular weight disulfide-rich peptides (<10 kDa). Until now, 30 phylogenetically distinct families of peptides, with 24 of these being cysteine-rich, have been described from eight species [23]. The traditional Chinese medicine has used the dried body of *S. subspinipes mutilans* for cancer and carbuncles treatment for hundreds of years [4,59]. Some reports showed fibrinolytic, antitumoral and immunopotentiating activities and suppression of atherosclerosis development by proteins found in the venoms [59]. In addition, the effects of venom peptides on the modulation of calcium, potassium, and sodium channels were studied [23].

All peptides characterized with antibacterial and antifungal activities are from *Scolopendra subspinipes mutilans* venoms (Table 3). In 2006, scolopendrin 1 was described for the first time as an antimicrobial agent against *E. coli*, without hemolytic or agglutination effects, but the sequence was not determined [60]. Peng *et al.* [61] reported the structural and functional characterization of scolopin 1 and scolopin 2, which showed strong antimicrobial activity against the Gram-positive bacteria *S. aureus* and *Bacillus dysenteriae*, the Gram-negative bacterium *E. coli*, and the fungus *C. albicans*, with minimal inhibitory concentrations (MICs) between 0.5 and 12.5 μ g/mL. These two peptides also showed moderate hemolytic activity against both human and rabbit red cells. Kong *et al.* [59] showed the activity of a novel peptide against *Clostridium perfringens*, *S. epidermidis*, and *E. coli* at 256 μ g/mL. In that study, the novel peptide displayed specific inhibitory effects on the proliferation of human gastric cancer cells (MGC) and human liver cancer (HepG2), prolonging whole blood clotting time *in vivo*, and was not toxic to erythrocytes treated for 1 h with 640 μ g/mL.

Other centipede peptides that are not derived from venom were shown to have antimicrobial activity. Scolopendrin 1 and scolopendrin 2 were effective against Gram-negative and Gram-positive bacterial strains and against different species of fungi [4,62]. Lactoferricin B like peptide (LBLP) exerted an antifungal and fungicidal activity without hemolysis by membrane damage [63]. Scolopendrasin II was effective against both bacteria and fungi in radial diffusion at concentrations of 0-400 μ g/mL [64].

Table 2. Source, sequence and microorganism species of peptides from bee venom with antimicrobial activity.

Bees								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Refer- ence
Apis mellif- era	Melittin	GIGAVLKVLTTGLPAL- ISWIKRKRQQ	Bacteria	<i>A. aerogenes</i>	30 mg/L	Disc diffusion MIC	NT NT	[44–49]
				<i>A. cloacae</i>	(105394.1 μM)			
				<i>C. Freundii</i>				
				<i>Corynebacterium sp.</i>				
				<i>E. Coli</i>				
				<i>P. aeruginosa</i>				
				<i>P. Fluorescens</i>				
				<i>P. maltophilia</i>				
				<i>P. Mirabilis</i>				
				<i>P. morgani</i>				
				<i>S. aureus</i>				
				<i>S. derby</i>				
				<i>S. feacalis</i>				
				<i>S. liquefaciens</i>				
				<i>S. marescens</i>				
				<i>S. newport</i>				
				<i>E. faecalis</i>				
				<i>L. casei</i>	6 μg/mL (2.1 μM)			
			<i>L. monocytogenes</i>	4 μg/mL (1.4 μM)				
			<i>S. aureus</i>	12.5 μg/mL (4.4 μM)				
			<i>S. salivarius</i>	25 μg/mL (8.8 μM)				
			<i>S. entérica</i>	10 μg/mL (3.5 μM)				
			<i>S. mitis</i>	100 μg/mL (35.1 μM)				
			<i>S. mutans</i>	10 μg/mL (3.5 μM)				
			<i>S. sanguinis</i>	40 μg/mL (14.1 μM)				
			<i>S. sobrinus</i>	10 μg/mL (3.5 μM)				
<i>Y. kristensenii</i>	10 μg/mL (3.5 μM)							
	200 μg/mL (70.3 μM)							
Virus	HIV-1 virus	0.9-1.5 μM	Antivirus activity	(+) 11μM				
	HSV-I virus	1.35 μM						
	HSV-2 virus	2.05 μM						
	Junin virus	0.86 μM						
Protozoa	<i>P. berghei</i> ookinetes	0.6 μM	Antima- laria activity	NT				
	<i>P. falciparum</i> gameto- cytes	50 μM						
<i>Melecta albifrons</i>	Melectin	GFLSILKKVLPKVMAMHK	Bacteria	<i>B. subtilis</i>	0.8 μM	MIC	(-) 100 μM	[51]
				<i>E. coli</i>	2.0 μM			
				<i>P. aeruginosa</i>	18.5 μM			
				<i>S. aureus</i>	6.8 μM			

(Table 2) contd....

Bees								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Lasioglossum laticeps</i>	Lasioglossin LL-I	VNWKKVLGKIIKVAK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.8 μ M 1.7 μ M 15.8 μ M 14.3 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[52]
<i>Lasioglossum laticeps</i>	Lasioglossin LL-II	VNWKKILGKIIKVAK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.7 μ M 1.4 μ M 14.4 μ M 9.0 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[52]
<i>Lasioglossum laticeps</i>	Lasioglossin LL-III	VNWKKILGKIIKVVK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.7 μ M 1.4 μ M 18.7 μ M 3.9 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[52]
<i>Halictus sexcinctus</i>	Halictine 1 HAL-1	GMWSKILGHLIR	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.8 μ M 3.8 μ M 45 μ M 7.7 μ M	MIC	(+) 82 μ M	[53]
<i>Halictus sexcinctus</i>	Halictine 2 HAL-2	GKWMSLLKHILK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	1 μ M 2.5 μ M 42.1 μ M 8.1 μ M	MIC	(+) 78.1 μ M	[53]
<i>Lasioglossum laticeps</i>	Lasiopepsin	GLPRKILCAI-AKKGKCKGPLKLVCCK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.4 μ M 8.6 μ M 15 μ M 93 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[54]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	3.6 μ M			
<i>Macropis fulvipes</i>	Macropin	GFGMALKLLKKVL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	1.3 μ M 3.0 μ M 35 μ M 3.7 μ M	MIC	(+) 160 μ M	[55]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	6.3 μ M			
<i>Panurgus calcaratus</i>	Panurgine 1 PNG-1	LNWGAILKHHK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	1.3 μ M 3.7 μ M 1.5 μ M 51.7 μ M 10.6 μ M	MIC	(+) 119 μ M	[56]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	7.3 μ M			
<i>Panurgus calcaratus</i>	Panurgine K PNG-K	LDVKKIICVACKIKPN-PACKKICPK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	3.3 μ M 63.3 μ M 1.6 μ M >100 μ M >100 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[56]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	24.2 μ M			
<i>Panurgus calcaratus</i>	Panurgine R PNG-R	LDVKKIICVACKIRPN-PACKKICPK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	1.5 μ M 32.5 μ M 0.8 μ M >100 μ M >100 μ M	MIC	(-) 200 μ M	[56]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	18.7 μ M			
<i>Colletes daviesanus</i>	Codesane	GMASLLAKVLPHVVKLIK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	3.7 μ M 2.5 μ M 1.7 μ M 31.7 μ M 3.7 μ M	MIC	(+) 105 μ M	[57]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	25 μ M			

Table 3. Source, sequence and microorganism species of peptides from centipede venom with antimicrobial activity.

Centipedes								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	Scolopendrin I	-----	Bacteria	Gram-positive	-----	-----	-----	[60]
			Fungi	Gram-negative				
<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	Scolopin 1	FLPKMSTKLRVPYRRG-TKDYH	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. dysenteriae</i> <i>S. aureus</i>	12.5 µg/mL (4.8 µM) 7.5 µg/mL (2.8 µM) 1.2 µg/mL (0.4 µM)	MIC	(+) 50 µg/mL (19.2 µM)	[61]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	15 µg/mL (5.7 µM)			
<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	Scolopin 2	GILKKFMLHRGTKVY-KMRTLKRSH	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. dysenteriae</i> <i>S. aureus</i>	5 µg/mL (1.6 µM) 2.5 µg/mL (0.83 µM) 0.5 µg/mL (0.2 µM)	MIC	(+) 50 µg/mL (16.5 µM)	[61]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	5 µg/mL (1.6 µM)			
<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	-	FTGGDESRIQEG	Bacteria	<i>C. perfringens</i> <i>E. coli</i> <i>S. epidermidis</i>	256 µg/mL (197.5 µM)	MIC	(+) 640 µg/mL (493.8 µM)	[59]

According to Undheim *et al.* [23] the venom of this ancient animal has an interesting two-step mechanism by using non-peptidic and neurotransmitter-releasing peptide neurotoxins that paralyze the prey, in addition to larger killing proteins. Although only a small number of venoms have been examined, the arsenal of peptides is more diverse than that of spiders and scorpions.

CONE SNAILS

Cone snails are slow-moving predatory gastropods of the genus *Conus*, with more than 500 species, that hunt fish, worms, and mollusks using a radula tooth, a harpoon-like structure that delivers venom (up to ~50 µL) deep into the prey, causing rapid paralysis due to the effect of the rich cocktail of conopeptides [18,65]. The cone snail venoms are complex mixtures, and some studies showed the presence of >1,000 conopeptides in a single venom [66,67]. It is estimated that <2% of conopeptide diversity has been sequenced, and ~0.1% has been characterized pharmacologically [18,65]. Several conopeptides are being tested for neurological diseases, epilepsy, neuropathic pain, and cardiac infarction, by inhibiting and interacting with ion channels, receptors and transporters [18]. Also, ω-conotoxin MVIIA (ziconotide - Prialt®) is approved by the FDA to treat unmanageable chronic pain, and an optimized version of χ-conotoxin MrIA is in phase IIa trials for post-surgical pain and cancer therapies [65,68].

Few studies have reported the antimicrobial activity of cone snail peptides (Table 4). Biggs *et al.* [69], testing the capacity of conolysin-Mt to disrupt cellular membranes, confirmed activity against *S. aureus*, with MIC between 25-50

µM, and low activity against *E. coli*, with high levels of hemolysis. The antimicrobial and chemotactic activities of ω-conotoxin MVIIA and analogues were tested by Yang *et al.* [70], when MVIIA was completely inactive against *E. coli* and *S. aureus* and yet exhibited activity against the fungus *Candida kefyr*. The analogue cAl presented activity against three organisms, with MICs of 2-11 µM. The analysis of antiviral activity of conotoxin MrIA and cyclic analogues against dengue virus protease showed that Conotoxin MrIA was active at 9 µM, and that peptide cyclization increases potency, stability, and cell permeability, shedding new light on the design of peptide inhibitors against various viral proteases [71].

It is clear that a lot of important work is still to be done. In particular, conotoxins have advantageous characteristics, since they are usually small, which facilitates synthesis, in addition to being more stable. These characteristics allow better performance in pharmacodynamic and pharmacokinetic, reducing side-effects.

SCORPIONS

Scorpions are venomous arthropods of the class Arachnida, order Scorpiones, adapted to survive in a wide variety of habitats [72]. About 1,700 species have been described living on Earth for nearly 400 million years. The success of this survival lies in the potent venoms secreted by glands at the end of the scorpion's telson, used to paralyze or kill the prey and to defend against possible competitors and predators [21,73]. Scorpion venom is a mixture of mucus, inorganic salts, low molecular weight organic molecules, biogenic amines, lipids, nucleotides, polypeptides, mucoproteins, and

Table 4. Source, sequence and microorganism species of peptides from cone snail venom with antimicrobial activity.

Cone Snails								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Conus mustelinus</i>	Conolysin-Mt	FHPSLWVLIPQY-IQLIRKILKSG	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	>50 μ M 25-50 μ M	MIC	(+) 1-10 μ M	[69]
<i>Conus</i> spp.	ω -conotoxin MVIIA	CKGKGAKCSRLMYD-CCTGSCRSKGC	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	>500 μ M >500 μ M	MIC	(+) 4210 μ M	[70]
			Fungi	<i>C. kefyr</i>	28.8 μ M			
<i>Conus marmoreus</i>	Conotoxin MrlA	NGVCCGYKLCHOC	Virus protease	Dengue virus (DENV)	9 μ M	Determination of Inhibitory Constant K_i	-----	[71]

unknown substances. Differing from other venoms, scorpion venom generally has low levels of enzyme activity or even lacks enzymes totally [72,74]. It is estimated that, in total, about 100,000 different peptides compose scorpion venoms; however, only 1% of these are known [74,75]. Studies reporting scorpion venom properties include: erectile dysfunction, autoimmune diseases, anticancer, analgesic, antiepileptic, cardiovascular, and antimicrobial effects [76].

In terms of the function of the high diversity of scorpion venom peptides, they have been extensively studied. Two recent reviews [73,77] discuss the characterization, structural properties, mechanisms of action, and possible therapeutic applications of the antimicrobial peptides from scorpion venoms, including antimicrobial potential applications. Table 5 presents these peptides considering those that complete the data specified in the columns. Harrison *et al.* [77] listed 45 peptides with antimicrobial activities reported previously, classifying them as cysteine containing AMPs [78–82], long chain non-cysteine containing AMPs [83–89], intermediate chain non-cysteine containing AMPs [12,85,89,90] and short chain non-cysteine containing AMPs [91–104]. Furthermore, without listing the sequences, spiniferin [89], BmKn2 [93,105], UyCt1-5 [106] with antibacterial properties and the peptides Hp1239 and Hp1046 [107] with antiviral activity against Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) were cited. Chen *et al.* [14], in a screening assay, also described the effect against the HIV-virus of BmKn2 and its derivative (Kn2-7). Almaaytah & Albalas [73] listed a total of 37 non-disulfide-bridged peptides (NDBPs) with antimicrobial activity. Almost all peptides are included in both reviews, except Css54 from the venom of *Centruroides suffusus suffusus* [108], with activity against *S. aureus* and *E. coli* strains.

Recent works also describe the isolation and activity characterization of venom peptides from different species of scorpions. Dueñas-Cuellar *et al.* [109] showed that Cm38 inhibits the proliferation of *Klebsiella pneumoniae* with a MIC of 64 μ M. However, the proliferation of *S. aureus* was weakly affected, at the same concentration. Shao *et al.* [110] reported BmK AS from the venom of *Buthus martensii* and Li *et al.* [111] identified the cationic Hp1404 from *Heterometrus petersii* that exhibited antimicrobial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Stigmurin from the venom gland of *Tityus stigmurus* [112]

was effective against *S. aureus*, *E. coli* and some species of *Candida*. Mauriporin from *Androctonus mauritanicus* [113] presented activity against eight bacterial strains in a range of 5 to 10 μ M. Also, the biofilm formation of *P. aeruginosa* was inhibited in the presence of the peptide, when a weak hemolytic activity was found. Du *et al.* [114] described AaeAP1 and AaeAP2 present in the venom of the North African scorpion, *Androctonus aeneas* that were active against *S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans*. Finally, the antimicrobial potential of VpAmp 1.0 and VpAmp 2.0 was shown by Ramírez-Carreto *et al.* [115], with MICs in the range of 2.5–50 μ M, including activity against *Mycobacterium tuberculosis*.

SNAKES

About 2,650 species of snakes from the *Viperidae*, *Elapidae*, *Atractaspididae* and *Colubridae* families have the ability, using fangs, to inject or inoculate venom secreted by oral glands [116]. The toxic effects of snake venoms on preys include immobilizing, paralyzing, killing, and digesting by modulation of muscle, cardiac or neurological systems through cell death or necrosis [22,68]. Snake venoms are a combination of carbohydrates, lipids, amines, proteins, enzymes and peptides [116,117]. Significant activities have been found in snake venoms with different pharmacological effects on immunological and cardiovascular systems, homeostasis, inflammatory and nociceptive responses, and anticancer activities [118,119]. Captopril[®], which is used for the treatment of renovascular hypertension (an angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibiting drug), is the most successful example of a pharmaceutical product from a peptide isolated of the venom of the Brazilian viper *Bothrops jararaca* in the 1950s [68], receiving the Nobel Prize in 1982 and listed as one of the 20 best selling drugs in the world [22].

De Oliveira Junior *et al.* [120] reported the therapeutic purposes of antimicrobial proteinaceous compounds of snake venoms, describing the antimicrobial effects of phospholipases A2, metalloproteinases, L-amino acid oxidases proteins and some peptides. As Table 6 shows, the crotoxin from rattlesnake *Crotalus durissus* [121] was tested against five bacterial species, exhibiting activity against *E. coli* strains with no appreciable hemolytic activity in erythrocytes. The Pep5Bj isolated from *Bothrops jararaca* [122]

Table 5. Source, sequence and microorganism species of peptides from scorpion venom with antimicrobial activity.

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Pandinus imperator</i>	Scorpine	GWINEEKIQK-KIDERMGNTVLGGMAKAIHVH-KMAKNE-FQCMANMDMLGNCEKHCQTS-GEKGYCHGTCCKCGTPLSY	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>K. pneumoniae</i>	1 μ M 10 μ M	MIC	NT	[78]
			Protozoa	<i>Plasmodium berghei</i> gameta <i>Plasmodium berghei</i> ookinete	10 μ M 0.7 μ M	Anti- Antipara- sitic activity		
<i>Opis-tophthalmus carinatus</i>	Opiscorpine 1	KWFNEKSIQNKIDE-KIGKNFLGGMAKAVVHKLAK-NEFMCVANVDMTKSCDTHCQ-KASGEKGYCHGTCCKCGVPLSY	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. oxysporum</i>	12 μ M 8.8 μ M 10.04 μ M	MIC	NT	[79]
<i>Heterometrus laoticus</i>	Hetero-scorpine-1 (HS-1) (in the fraction CM89)	GWINEEKIQKKIDEKIGN-NILGGMAKAVVHKLAKGE-FQCVANIDTMGNCETHCQKTS-GEKGFCHGTCCKCGKPLSY	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i>	0.00413 μ M	Disc diffusion	NT	[80]
<i>Hadrurus gertschi</i>	HgebKTx	KSTVGQKLKKLNQAVD-KVKEVLNKSEYMCPVVSF-CKQHCARLGKSGQCDLLECI-C-	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	200-500 nM (0.2-0.5 μ M)	*Liquid growth inhibition	NT	[81]
	HgeScplp1	GWMSEKKVQGILDKKLPEGI-IRNA-AKAIVHKMAKNQFGCFANVD-VKGDCKRHCKAEDKEGI-CHGTCCKCGVPISYL						
<i>Tityus discrepans</i>	Bactridine 1	KDGYHIEHRGCKYSCFFGTNSW-CNTE-CTLKKGSSGYCAWPAC-WCYGLPDNVKIFDSNNLKC	Bacteria	<i>A. calcoaceticus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. faecalis</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Y. enterocolitica</i>	43 μ g/mL (6.2 μ M) 22 μ g/mL (3.2 μ M) 34 μ g/mL (4.9 μ M) 43 μ g/mL (6.2 μ M) 77 μ g/mL (11.1 μ M) 49 μ g/mL (7.1 μ M)	MIC	(+) 90 μ M	[82]
<i>Tityus discrepans</i>	Bactridine 2	KDGYLVGNDG-CKYSCFTRPGTYCAN-ECSRVKGKDGYCYAWMACY-CYSMPNWWKTWNRATNRCGR	Bacteria	<i>A. calcoaceticus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. faecalis</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Y. enterocolitica</i>	27 μ g/mL (3.6 μ M) 30 μ g/mL (4.1 μ M) 65 μ g/mL (8.8 μ M) 27 μ g/mL (3.6 μ M) 54 μ g/mL (7.3 μ M) 46 μ g/mL (6.2 μ M)	MIC	(+) 90 μ M	[82]
<i>Opistophthalmus carinatus</i>	Opistoporin 1	GKVWDWIKSTAKKLWNSEP-VKELKNTALNAAKNLVAEKI-GATPS	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. influenzae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>N. asteroides</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. choleraesuis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pneumoniae</i>	12.5 μ M 12.5 μ M 12.5 μ M 1.6 μ M 6.3 μ M 12.5 μ M 12.5 μ M >50 μ M >50 μ M 12.5 μ M >50 μ M 25 μ M 50 μ M 12.5 μ M	MIC	(+) <100 μ M	[83]

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Hadrurus aztecus</i>	Hadrurin	GILDTIKSIASKVWNSKTVQD-LKRKGINWVANKLGVSPQAA	Bacteria	<i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. thyphi</i>	<10 µM <10 µM 50 µM 40 µM 50 µM <10 µM 40 µM	MIC	(+) 30 µM	[84]
<i>Pandinus imperator</i>	Pandinin 1	GKVWDWIKSAAKKI-WSSEPVSQKLGQVLNA-AKNYVAEKIGATPT	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	5.2 µM 20.8 µM 1.3 µM >20.8 µM 2.6 µM 5.2 µM	MIC	(+) 2.7 µM	[85]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	>20.8 µM			
<i>Opistophtalmus carinatus</i>	Parabuto- porin	FKLGSFLKKAWKSKLAKKLR-AKGKEMLKDYAKGLLEGG-SEEVPGQ	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. influenzae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>N. asteroides</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. choleraesuis</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. pneumoniae</i>	50 µM 3.1 µM >50 µM 3.1 µM 1.6 µM 6.3 µM 25 µM >50 µM 6.3 µM >50 µM 3.1 µM >50 µM >50 µM	MIC	(+) 5 µM	[83]
<i>Vaejovis mexicanus</i>	Vejovine	GIWSSIKNLASKAWNSDIGQSL-RNKAAGAINKFVADKIGVTPS-QAAS	Bacteria	<i>A. baumannii</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i>	20 µM 4.4 µM 4.4 µM 17.7 µM 50 µM	MIC	(+) 100 µM	[86]
<i>Mesobuthus martensii</i>	BmKbpp	FRFGSFLKKVWWSKLAKKLRS-KGKQLLKDYANKVLNG-PEEEAAPAE	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. influenzae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>M. luteus</i> <i>N. asteroides</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i> <i>S. marcescens</i>	24.4 µM 2.3 µM 57.1 µM 3.2 µM 2.8 µM 5.7 µM 20.3 µM >70 µM 4.7 µM >70 µM 2.3 µM 68.2 µM	MIC	(+) 6 µM	[87]
<i>Isometrus maculatus</i>	Im-1	FSFKRLKGFACKLWNSKLARK-IRTKGLKYVKN-FAKDMLSEGEEAPPAA-EPPVEAPQ	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	0.8-1.6 µM 0.4-0.8 µM 13-45 µM	MIC	NT	[88]
<i>Heterometrus spinifer</i>	Heterin-1	GVWDWLKKTAKNVWNSDIV-KQLKGKAINAAKNYVAEKI-GATPS	Bacteria	<i>B. megaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>P. fluorescens</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i>	4 µM 40 µM 25 µM 4 µM 27 µM 26 µM 42 µM 15 µM	MIC	(+) 2.5 µM	[89]
<i>Mesobuthus eupeus</i>	Meucin-24	GRGREFMSNLKEKLSGVKEK-MKNS	Protozoa	<i>P. berghei</i> <i>ookinetes</i>	10 to 20 µM	Antiparasitic activity	(-) 100 µM	[12]
	Meucin-25	VKLIQIRIWIQYVTVLQMFSMK-TKQ		<i>P. falciparum</i> trophozoite	10 µM			

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Heterometrus spinifer</i>	HsAp	SGTSEKERESGRLLGVVKRLI-VCFRSPFP	Bacteria	<i>B. magaterium</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. oxytoca</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i>	11.8 µM 46.5 µM 47.9 µM 51.2 µM 50.5 µM 23.8 µM 24 µM 23.6 µM 25 µM	MIC	(+) 1 µM	[90]
			Fungi	<i>C. tropicalis</i>	48.6 µM			
<i>Pandinus imperator</i>	Pandinin 2	FWGALAKGALK-LIPSLFSSFSKKD	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	4.8 µM 19.1 µM 2.4 µM 38.3 µM 2.4 µM 4.8 µM	MIC	(+) 2.7 µM	[85]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	19.1 µM			
<i>Heterometrus spinifer</i>	Heterin-2	FWGALAKGALK-LIPSLVSSFTKKD	Bacteria	<i>B. megaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. oxytoca</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>P. fluorescens</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i>	30 µM >45 µM 15.8 µM >45 µM 15.8 µM 20 µM 40 µM 5.6 µM 30 µM	MIC	(+) 0.8 µM	[89]
<i>Opisthacanthus mada-gascariensis</i>	IsCT	ILGKIWEGIKSLF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>S. Aureus</i> <i>S. saprophyticus</i>	10 µg/mL (6.6 µM) 25 µg/mL (16.6 µM) 10 µg/mL (6.6 µM) >200 µg/mL (>133 µM) >200 µg/mL (>133 µM) 5 µg/mL (3.3 µM) 1 µg/mL (0.6 µM)	MIC	(+) 1 µM	[91]
<i>Opisthacanthus mada-gascariensis</i>	IsCT2	IFGAIWNGIKSLF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. saprophyticus</i>	6.8 µM 17.1 µM 6.8 µM >150 µM >150 µM 3.4 µM 0.7 µM	MIC	(+) 25 µM	[92]
<i>Buthus martensii</i>	BmKb1	FLFSLIPSAISGLISAFK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. Coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	48.8 µg/mL (32.4 µM) 18.1 µg/mL (9.5 µM) 81.5 µg/mL (42.6 µM) 90.8 µg/mL (47.5 µM) 16 µg/mL (8.4 µM)	MIC	NT	[93]

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Mesobuthus eupeus</i>	Meucin-13	IFGAIAGLLKNIF	Bacteria	<i>A. fumigatus</i> <i>A. tumerfaciens</i> <i>B. megaterium</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Beauveria spp.</i> <i>E. coli</i> <i>G. candidum</i> <i>M. luteus</i> <i>N. crassa</i> <i>S. oneidensis</i> <i>S. typhimurium</i> <i>Stenotrophomonas sp.</i>	>50 μ M 11.8 μ M 0.25 μ M 2 μ M 14.1 μ M 7.9 μ M >50 μ M 2.9 μ M 18.3 μ M 6.2 μ M >50 μ M 6.2 μ M	**Inhibiti on zone	(+) 6.25 μ M	[94]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	42.8 μ M			
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	18.3 μ M			
<i>Vaejovis mexicanus smithi</i>	VmCT1	FLGALWNVAKSVF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. typhi</i>	20 μ M 25 μ M 10 μ M 20 μ M 10 μ M 5 μ M	MIC	(+) 10–50 μ M	[95]
<i>Vaejovis mexicanus smithi</i>	VmCT2	FLSTLWNAKSIF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. typhi</i>	20 μ M 20 μ M 10 μ M 20 μ M 10 μ M 10 μ M	MIC	(+) 10–50 μ M	[95]
<i>Lychas mucronatus</i>	Mucroporin	LFGLIPSLIGGLVSAFK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	50 μ g/mL 28.8 μ M 25 μ g/mL 14.4 μ M >100 μ g/mL 57.8 μ M >100 μ g/mL 57.8 μ M 25 μ g/mL 14.4 μ M	MIC	NT	[96]
<i>Androctonus amoreuxi</i>	AamAP1	FLFSLIPHAIGGLISAFK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	150 μ M 20 μ M	MIC	(+) 150 μ M	[97]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	64 μ M			
<i>Androctonus amoreuxi</i>	AamAP2	FLFSLIPSAISGLISAF	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	120 μ M 48 μ M	MIC	(+) 120 μ M	[97]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	64 μ M			
<i>Isometrus maculatus</i>	Imcporin	FFSLLPSLIGGLVSAIK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. aureus</i> (MRSA) <i>S. coagulase negative</i> (MRCNS) <i>S. epidermidis</i> (PRSE) <i>S. epidermidis</i> (PSSE)	50 μ g/mL (28.4 μ M) 50 μ g/mL (28.4 μ M) >100 μ g/mL (>56.8 μ M) 20 μ g/mL (11.3 μ M) >100 μ g/mL (>56.8 μ M) 20 μ g/mL (11.4 μ M) 50 μ g/mL (28.4 μ M) 50 μ g/mL (28.4 μ M) 50 μ g/mL (28.4 μ M) 20 μ g/mL (11.4 μ M)	MIC	(+) 20–100 μ g/ μ L (11.4 - 56.8 μ M)	[98]

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Scorpiops tibetanus</i>	StCT1	GFWGSLWEGVKSVV	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringensis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	>100 µg/mL (>64.5 µM) >100 µg/mL (>64.5 µM) >100 µg/mL (>64.5 µM) 100 µg/mL (64.5 µM) >100 µg/mL (>64.5 µM) 12.5 µg/mL (8.1 µM)	MIC	NT	[99]
<i>Scorpiops tibetanus</i>	StCT2	GFWGKLWEGVKSAL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	25 µg/mL (15.9 µM) 50 µg/mL (31.7 µM) 50 µg/mL (31.7 µM) 25 µg/mL (15.9 µM) >100 µg/mL (63.4 µM) 6.25 µg/mL (4.0 µM)	MIC	(+) 50 µg/mL (31.7 µM)	[100]
<i>Mesobuthus eupeus</i>	Meucin-18	FFGHLFKLATKIIPSLFQ	Bacteria	<i>A. fumigatus</i> <i>A. tumerfaciens</i> <i>B. megaterium</i> <i>Beauveria spp.</i> <i>E. coli</i> <i>G. candidum</i> <i>M. luteus</i> <i>N. crassa</i> <i>S. oneidensis</i> <i>S. typhimurium</i> <i>Stenotrophomonas sp.</i>	8.3 µM 6 µM 0.25 µM 1.9 µM 2.4 µM 3.5 µM 0.6 µM 5.2 µM 1.5 µM 10.9 µM 2.6 µM	**Inhibition zone	(+) 6.25 µM	[94]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	25.1 µM			
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	10.9 µM			
<i>Chaerilus tricostatus</i>	Ctriporin	FLWGLIPGAISAVTSLIKK	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>M. Luteus</i> <i>P. Aeruginosa</i> <i>S. Aureus</i> <i>S. aureus</i> MRSA Penicillin-resistant <i>S. aureus</i> MSSA <i>S. epidermidis</i>	10 µg/mL (4.9 µM) 10 µg/mL (4.9 µM) >100 µg/mL (>49.6 µM) 5 µg/mL (2.5 µM) >100 µg/mL (>49.6 µM) 5 µg/mL (2.5 µM) 10 µg/mL (4.9 µM) 5 µg/mL (2.5 µM) 10 µg/mL (4.9 µM)	MIC	NT	[101]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	20 µg/mL (9.9 µM)			

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Heterometrus petersii</i>	Hp1090	IFKAIWSGIKSLF	Virus	Hepatitis C virus	6-20 µg/mL (3.98 – 13.2 µM)	Anti-HCV activity	NT	[102]
<i>Pandinus imperator</i>	Pantinin-1	GILGKLWEGFKSIV	Bacteria	<i>B. magaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. oxytoca</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> MRSA <i>S. enterica</i> VRE	32 µM 76 µM 62 µM >87 µM 32 µM 87 µM 28 µM 14 µM 72 µM 8 µM	MIC	(+) 32 µM	[103]
			Fungi	<i>C. tropicalis</i>	16 µM			
<i>Pandinus imperator</i>	Pantinin-2	IFGAIWKGISSLL	Bacteria	<i>B. magaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. oxytoca</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> MRSA <i>S. enterica</i> VRE	36 µM >87 µM 48 µM >87 µM 18 µM >87 µM 48 µM 28 µM 68 µM 36 µM	MIC	(+) 8 µM	[103]
			Fungi	<i>C. tropicalis</i>	16 µM			
<i>Pandinus imperator</i>	Pantinin-3	FLSTIWNIGIKSLL	Bacteria	<i>B. magaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>K. oxytoca</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>S. aureus</i> MRSA <i>S. enterica</i> VRE	6 µM >87 µM 36 µM 87 µM 8 µM >87 µM 16 µM 12 µM 84 µM 4 µM	MIC	(+) 8 µM	[103]
			Fungi	<i>C. tropicalis</i>	17 µM			
<i>Tityus serrulatus</i>	TsAP-1	FLSLIPSLVGGSISAFK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	160 µM 120 µM	MIC	(+) 160 µM	[104]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	16 µM			
<i>Tityus serrulatus</i>	TsAP-2	FLGMIPGLIGGLISAFK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	>320 µM 5 µM	MIC	(+) 20 µM	[104]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	10 µM			
<i>Heterometrus spinifer</i>	Spiniferin	ILGEIWKGIKDIL	Bacteria	<i>B. megaterium</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. putida</i> <i>P. fluorescens</i> <i>S. aureus</i> <i>S. enterica</i>	50 µM >82 µM 82 µM 2 µM 16 µM 32 µM 12 µM 35 µM	MIC	(+) 3 µM	[89]

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Buthus martensii</i>	BmKn2	FIGAIARLLSKIF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. Aureus</i> <i>N. gonorrhoeae</i>	5 µg/mL (3.4 µM) 1.5 µg/mL (1.04 µM) 8 µg/mL (5.5 µM) 6.9-27.6 µM (4.4 - 19.1 µM) 21.3 µg/mL (14.7 µM) 0.6 µg/mL (0.4 µM)	MIC	NT	[14,93,105]
			Virus	HIV virus	10 µg/mL (6.9 µM)	Anti-HIV activity		
<i>Urodacus yaschenkoi</i>	UyCT1	GFWGKLWEGVKNAI	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	10 µM 10 µM 15 µM	MIC	(+) 50 µM	[106]
<i>Urodacus yaschenkoi</i>	UyCT2	FWGKLWEGVKNAI	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	25 µM 40 µM	MIC	(+) 50 µM	[106]
<i>Urodacus yaschenkoi</i> , Australia also <i>Opisthacanthus cayaporum</i>	UyCT3	ILSAIWSGIKSLF	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	15 µM 6 µM 10 µM	MIC	(+) 50 µM	[106]
<i>Urodacus yaschenkoi</i>	UyCT5	IWSAIWSGIKGLL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	15 µM 2 µM 1 µM	MIC	(+) 50 µM	[106]
<i>Heterometrus petersii</i>	Hp1239	ILSYLWNGIKSIF	Virus	HSV-1 Virus	0.43 µM	Antiviral activity	(+)	[107]
	Hp1036	ILGKIWEGIKSIF			0.41 µM		0.47 µM 0.96 µM	
<i>Centruroides suffusus suffusus</i>	Css54	FFGSLLSLGSKLLPSVFKLFQR-KKE	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	12 µM	MIC	(+) 10 µM	[108]
<i>Centruroides margaritatus</i>	Cm38	ARDGYIVDEKCKFACFIN	Bacteria	<i>K. pneumoniae</i>	64 µM	MIC	(-) 64 µM	[109]
<i>Buthus martensii</i>	BmK AS	DNGYLLDKYTGCKVWCVIN-NESCNSECKIRGGYGY-CYFWKLACFCQARKSEL-WNYNTNKCNGKL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. typhimurium</i>	5 µM 4.5 µM 10 µM 4.5 µM	MIC	(+) 2 µM	[110]
<i>Heterometrus petersii</i>	Hp1404	GILGKLWEGVKSIF	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecium</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. aureus MRSA</i> <i>S. epidermidis</i>	12.5 µg/mL (8.1 µM) >100 µg/mL (8.1 µM) 12.5 µg/mL (8.1 µM) 12.5 µg/mL (8.1 µM) >100 µg/mL (8.1 µM) 25 µg/mL (16.2 µM) 12.5 µg/mL (8.1 µM) 25 µg/mL (16.2 µM) 25 µg/mL (16.2 µM)	MIC	(+) 146.5 µM	[111]

(Table 5) contd....

Scorpions								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Tityus stigmurus</i>	Stigmurin	FFSLIPSLVGGLISAFK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>S. aureus MRSA</i>	>139 μ M 8.68 μ M 17.37 μ M	MIC	(+) 139.5 μ M	[112]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. krusei</i>	34.75 μ M 69.5 μ M 69.5 μ M			
<i>Androctonus mauritanicus</i>	Mauriporin	FKIGGFIKKLWRSKLAKKLRAK-GRELLKDYANRVINGG-PEEEAAVPAE		<i>A. baumannii</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. ivanovii</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. enterica</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. typhimurium</i>	5 μ M 7.5 μ M 5 μ M 5 μ M 10 μ M 5 μ M 10 μ M 7.5 μ M	MIC	(+) 1-100 μ M	[113]
<i>Androctonus aeneas</i>	AaeAP1	FLFSLIPSVIAGLVSAIRN	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	>512 mg/L (>253.9 μ M) 16 mg/L (7.9 μ M)	MIC	(+) 16 mg/L (7.9 μ M) 64 mg/L (31.7 μ M)	[114]
	AaeAP2	FLFSLIPSAIAGLVSAIRN	Fungi	<i>C. albicans</i>	32 mg/L (5.8 μ M)			
<i>Vaejovis punctatus</i>	VpAmp1.0	LPFFLLSLIPSAISAIKKI	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>M. tuberculosis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. agalactiae</i>	24 μ M 17.4 μ M 2.5 μ M 2.5 μ M 2.5 μ M	MIC	(+) 9.2 μ M	[115]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	6.25 μ M >50 μ M			
<i>Vaejovis punctatus</i>	VpAmp2.0	FWGFLGKLAMKAVP-SLIGGNKSSSK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>M. tuberculosis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i>	24 μ M 21.4 μ M 15 μ M 15 μ M 10 μ M	MIC	(+) 167 μ M	[115]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	12.5 μ M 50 μ M			

*Liquid growth inhibition: Purity of peptides were incubated with approximately 1.5×10^5 colony-forming units/ml. incubated in Luria Bertani (LB) sterile liquid medium, after 8h the spectrophotometric readings (595 nm) were performed [81].

**Inhibition zone: Hultmark's method [94].

had inhibitory activity against fungi and yeasts *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *C. albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*, but structural analyses and amino acid sequences have not been elucidated. The omwaprins from the venom of inland taipan *Oxyuranus microlepidotus* [123] showed a selective and dose-dependent antibacterial activity against Gram-positive bacteria *B. megaterium* and *Staphylococcus warneri*, without activity against three other Gram-positive and Gram-negative strains.

Helical cathelicidins have been identified in cDNA from the venom glands of three species of elapid snakes: *Bugarus fasciatus* (cathelicin-BF) *Ophiophagus hannah* (OH-CATH), and *Naja atra* (NA-CATH) (Table 6) [124,125]. Cathelicin-BF [124] efficiently killed bacteria, especially active against Gram-negative strains and some fungal species, including clinically isolated drug-resistant microorganisms, though no hemolytic or cytotoxic activity was observed using doses of up to 400 μ g/mL. Zhao *et al.* [125] cloned and sequenced the OH-CATH peptide, which exhib-

ited broad-spectrum antimicrobial activity against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. Subsequently, Zhang *et al.* [126], in a study that explored the structure-function relationships based on bactericidal and hemolytic activities of OH-CATH and six of its analogs, further showed the activity of OH-CATH against *S. aureus* and *E. cloacae*. Li *et al.* [127] described OH-CATH30 as a novel cathelicidin peptide deduced from the king cobra (*O. hannah*) with efficacy against bacteria in mouse models and *in vitro* against drug-resistant clinical isolates of several pathogenic species, including *E. coli*, *P. aeruginosa*, and methicillin-resistant *S. aureus*. Many studies reported the antimicrobial activity of NA-CATH and small peptides derivatives [128–132]. De Latour *et al.* [128], in a study that investigated the differences in amino acid sequences and peptide structures, play in their antimicrobial effectiveness, confirmed the susceptibility of *E. coli* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* to NA-CATH (0.19 and 1.7 μ g/mL, respectively) and 11 amino acid peptides

Table 6. Source, sequence and microorganism species of peptides from snake venoms with antimicrobial activity.

Snakes								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Crotalus durissus</i>	Crotamin	YKQCHKKGGHCFPKEKIC-LPPSSDFGKMDCRWR-WKCKKKGSG	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	100 µg/mL (20 µM) >200 µg/mL (>41 µM) >200 µg/mL (>41 µM) >200 µg/mL (>41 µM) >200 µg/mL (>41 µM)	MIC	(+) 1024 µg/mL (209.5 µM)	[121]
<i>Bothrops jararaca</i>	Pep5Bj	Not elucidated	Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. lindemuthianum</i> <i>F. oxysporum</i>	8–10 µg/mL (without molecular mass data to calculate in µM)	*Inhibitory effect on growth	NT	[122]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	8–10 µg/mL			
<i>Oxyuranus microlepidotus</i>	Omwaprin	KDRPKKPGLCPPRPQKPC-VKECKNDDSCPGQKQC-CNYGCKDECRDPIFVG	Bacteria	<i>B. megaterium</i> <i>S. warneri</i>	560.2 µg/mL (100 µM) 1.7 mg/mL (0.3 µM)	MIC	(-)	[123]
<i>Bungarus fasciatus</i>	Cathelicidin-BF (BF-30)	KFFRKLKKS VKKRAKEFF-KKPRVIGVSIPF	Bacteria	<i>A. calcoaceticus</i>	2.3 µg/mL (0.6 µM)	MIC	(-) 400 µg/mL (110 µM)	[124]
				<i>B. cereus</i>	1.2 µg/mL (0.3 µM)			
				<i>B. kuerlensis</i>	4.7 µg/mL (1.3 µM)			
				<i>B. pumilus</i>	9.4 µg/mL (2.6 µM)			
				<i>B. subtilis</i>	9.4 µg/mL (2.6 µM)			
				<i>E. coli</i>	2.3 µg/mL (0.6 µM)			
				<i>E. faecium</i>	150 µg/mL (41.3 µM)			
				<i>K. pneumoniae</i>	1.2 µg/mL (0.3 µM)			
				<i>P. aeruginosa</i>	4.7 µg/mL (1.3 µM)			
				<i>P. luteola</i>	1.2 µg/mL (0.3 µM)			
				<i>S. aureus</i>	4.7 µg/mL (1.3 µM)			
				<i>S. marcescens</i>	>400 µg/mL (>110 µM)			
				<i>S. siyangense</i>	9.4 µg/mL (2.6 µM)			
				<i>S. typhi</i>	1.2 µg/mL (0.3 µM)			
			Fungi	<i>A. nicalans</i>	18.7 µg/mL (5.1 µM)			
				<i>A. terreus</i>	18.7 µg/mL (5.1 µM)			
				<i>C. albicans</i>	4.7 µg/mL (1.3 µM)			
				<i>C. globosum</i>	37.5 µg/mL (10.3 µM)			
				<i>P. pastoris</i>	0.3 µg/mL (0.1 µM)			

(Table 6) contd....

Snakes								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Ophiophagus hannah</i>	OH-CATH	KRFKKFFKKLKNSVKKRA-KKFFKKPRVIGVSIPF	Bacteria	<i>E. aerogenes</i> <i>E. aloacae</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	2 µg/mL (0.5 µM) 4 µg/mL (1 µM) 4 µg/mL (1 µM) 8 µg/mL (2 µM) 1 µg/mL (0.25 µM) 8 µg/mL (2 µM)	MIC	(+) 200 µg/mL (48.2 µM)	[125,126]
<i>Ophiophagus hannah</i>	OH-CATH30	KFFKKLKNSVKKRAKKFF-KKPRVIGVSIPF	Bacteria Fungi	<i>E. coli</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. aerogenes</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>H. influenzae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. aureus MRSA</i> <i>E. faecalis</i> <i>C. albicans</i>	6.25 µg/mL (1.7 µM) 25 µg/mL (7 µM) 6.25 µg/mL (1.7 µM) 6.25 µg/mL (1.7 µM) 3.125 µg/mL (0.9 µM) 6.25 µg/mL (1.7 µM) 3.125 µg/mL (0.9 µM) 6.25 µg/mL (1.7 µM) 256 µg/mL (71.2 µM) >200 µg/mL (55.7 µM)	MIC	(+) 400 µg/mL (111.3 µM)	[127]
<i>Naja atra</i>	NA-CATH	KRFK-KFFKKLKNSVKKRA-KKFFKKPKVIGVTIPF	Bacteria	<i>A. baumannii</i> <i>A. actinomycetemcomitans</i> <i>B. thailandensis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>F. tularensis novicida</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i>	16 µg/mL (3.8 µM) 1.7 µg/mL (0.4 µM) 3.66 µg/mL (0.9 µM) 0.19 µg/mL (0.05 µM) 32 µg/mL (7.7 µM) 1.54 µg/mL (0.4 µM) 32 µg/mL (7.7 µM) 0.52 µg/mL (0.1 µM) 2.9 µg/mL (0.7 µM) 16 µg/mL (3.8 µM)	MIC	(-) 100 µg/mL (24 µM)	[128–132]
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	Crotalicidin	KRFKKFFKKVKKS VKKRL-KKIFKKPMVIGVTIPF	Bacteria	<i>A. baumannii</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i>	16 µg/mL (3.9 µM) 0.25 µg/mL (0.1 µM) 32 µg/mL (7.7 µM) 8 µg/mL (1.9 µM) 1 µg/mL (1.9 µM) 32 µg/mL (7.7 µM) 16 µg/mL (3.9 µM)	MIC	(+) 25 µM	[133]

(Table 6) contd....

Snakes								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Bothrops atrox</i>	Batroxicidin	KRFKKFFKCLKNSVKKR- KKFFRKPRVIGVTFPF	Bacteria	<i>A. baumannii</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i>	16 µg/mL (3.8 µM) 0.25 µg/mL (0.1 µM) 32 µg/mL (7.5 µM) 8 µg/mL (1.9 µM) 1 µg/mL (0.2 µM) 32 µg/mL (7.5 µM) 16 µg/mL (3.8 µM)	MIC	(+) 12.5 µM	[133]
<i>Pseudonaja textilis</i>	Pt_CRAMP1	KRFKKFFMKLKKSVKKR- VMKFFKKPMVIGVTFPF	Bacteria	<i>A. baumannii</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i>	16 µg/mL (3.8 µM) 2 µg/mL (0.5 µM) 32 µg/mL (7.6 µM) 32 µg/mL (7.6 µM) 8 µg/mL (1.9 µM) 32 µg/mL (7.6 µM) 16 µg/mL (3.8 µM)	MIC	(+) ~6.25 µM	[133]

*Inhibitory effect on growth: Saline solution with fungal were incubated in the presence of different concentrations from peptide solutions. Optical readings at 620 nm were taken at zero time and at each 6 h for the following 44 or 60 h [122].

designed. Dean *et al.* [130,131] found NA-CATH antimicrobial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa* using 2.9 and 0.52 µg/mL. Antibiofilm activity was tested against *S. aureus* and it was observed that at 10 µg/mL biofilm inhibited up to ~50%. Moreover, other studies [129,132] showed effective action of NA-CATH against *Francisella tularensis novicida* (model organism for *Francisella tularensis*) and *Burkholderia thailandensis* (a Gram-negative soil bacterium used as a model organism for *Burkholderia pseudomallei*) at concentrations of 1.54 and 3.66 µg/mL. *F. tularensis* and *B. pseudomallei* infections are considered a biological threat, inclined to develop antibiotic resistance and potentially useful as a biological weapon.

In addition, Falcao *et al.* [133], in a study about cathelicidin-related peptides from the venom gland of South American pit vipers *Bothrops atrox*, *B. lutzi*, *Crotalus durissus terrificus*, *Lachesis muta rhombeata*, and an elapid *Pseudonaja textilis*, identified six novel, genetically encoded peptides, three of which (crotoxicidin batroxidicin Pt_CRAMP1) exhibited potent killing activity against a number of bacterial strains (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Streptococcus pyogenes*) (Table 6), mostly with relatively less potent hemolysis.

Snake venoms - with their surprising chemical diversity - are amongst the most successful examples of the potential for new drugs, and more studies corroborate this statement. The bactericidal profile of some venoms, such as viperidins, points to a promising pattern for the development of

peptide antibiotics [133]. Snake venom may contain hundreds of components varying with species and also from post-translational modifications such as glycosylation and phosphorylation [22].

SPIDERS

Spiders (order Araneae) are divided into 3,928 genera and 114 families, with more than 45,000 extant species [134]. These arthropods are the most venomous animals, composing the largest group of terrestrial predators [134,135]. Most spiders produce venom in paired glands located either in the basal segment of chelicerae or at the anterior side of prosoma. A duct from each venom gland leads to a small opening near the tip of the corresponding fang, which delivers controlled microliter doses of venom [136]. The evolutionary success of spiders lies in the ability to produce complex venoms whose primary purpose is to incapacitate the nervous system of the prey, which often can be larger, physically dangerous or even more venomous [136]. Spider venoms are heterogeneous mixtures of low molecular weight organic components, nucleotides, free amino acids, proteins, enzymes, and small linear or disulfide-rich peptides [134]. Some spider species produce venom containing >1,000 unique 2-8 kDa peptides, which are the primary components of the venom mixture [134,137]. However, only a small number of these peptides have been pharmacologically characterized, and the range of known biological activities is considerable with antiarrhythmic, analgesic, enzyme inhibitory, cytolytic, haemolytic, antitumor,

modulation of ion channels, antimicrobial, antiparasitic effects described to date [137]. In a review, Gao *et al.* [138] listed the main classes of antimicrobial peptide components from spiders venoms or haemocytes as multifunctional molecules having a broad spectrum of activities. Table 7 shows the main peptides from spider venom with antimicrobial activity.

In the first report about the occurrence of antimicrobial peptides in spider venom, lycotoxins I and II from wolf spider *Lycosa carolinensis* were identified and characterized. They inhibited bacteria and yeast, and lysed red blood cells [139]. Since then, other peptides derived from the *Lycosa*-genus have been described. The sequencing of venom glands of the *L. singoriensis* detected two new AMPs, named lycocitin 1 and lycocitin 2 [140], which presented a broad spectrum of antimicrobial activity against Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*), Gram-positive bacteria (*B. subtilis*, *Micrococcus luteus* and *S. aureus*), and fungi (*C. albicans*) in plate growth inhibition assays. For lycocitin 1, the MIC values were 1.6 and 6.4 mM against *E. coli* and *B. subtilis* respectively. For lycocitin 2, MICs were in the range 1.25-10.05 mM for *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, and *C. albicans*. Tan *et al.* [141] tested lycosin-I from *L. singoriensis* against 27 strains of microbes, including bacteria and fungi. The peptide inhibited growth of most microorganisms at low micromolar concentrations, with rapid, selective, and broad-spectrum bactericidal activity and a synergistic effect with traditional antibiotics with potent bactericidal activity *in vivo*, in a mouse thigh infection model. Santos *et al.* [142] isolated LyeTx I from *L. erythrogna*, which was shown to be active against bacteria (*E. coli* and *S. aureus*) and fungi (*Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans*), and able to alter the permeabilisation of L- α -phosphatidylcholine-liposomes (POPC) with low haemolytic activity.

Kozlov *et al.* [143] isolated seven AMPs from the *Lachesana tarabaevi* spider venom that were named latarcins 1, 2a, 3a, 3b, 4a, 4b, and 5. Furthermore, two other putative mature peptides, latarcin 6a and latarcin 7, with negligible similarity (< 20% identity) but sharing common characteristics with other latarcins were chemically synthesized. To investigate their antimicrobial activities, *Arthrobacter globiformis*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Pichia pastoris*, and *S. cerevisiae* were used as bacterial and fungal strains with MIC values from 0.3 to >70 μ M. Lazarev *et al.* [144], in a subsequent study, suggested gene therapy against *Chlamydia trachomatis* infection as spider venom peptides showed the ability of latarcins 1, 2a, 3a, 4b and 5 to decrease *C. trachomatis* viability inside the infected cells by controlled expression of the transgenes. Vassilevski *et al.* [145] designated cyto-insectotoxins (CITs) for eight peptides identified in *L. tarabaevi* venom with cytolytic and insecticidal activities. The antimicrobial studies were performed only with cyto-insectotoxin 1a, which was tested on a number of Gram-positive (*A. globiformis*, *B. subtilis*, *M. luteus*, and *S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Serratia marcescens*) bacteria. Kuzmenkov *et al.* [146] isolated five new cysteine-rich toxins active against insects by cytolytic activity in fly larvae. Latartoxin 1a and its synthetic latartoxin 1a C-terminal were further tested against *A. globiformis*, *B. subtilis*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* bacteria.

With respect to the wolf spider of the genus *Oxyopes*, oxyopinins were isolated from *O. kitabensis* [147]. Two peptides, oxyopinin 1 and oxyopinin, were tested and found to be active against *S. aureus* and *E. coli* with MICs between 1.6-12.5 μ M, and the spiderine OtTx1a was isolated from *O. takobius* [148] with activities between 0.12-12 μ M against four different bacterial strains. Furthermore, other works isolated new spider venom peptides. Cupiennin 1a and cupiennin 1d from *Cupiennius salei* were tested against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, and *E. faecalis* with MICs between 0.08-5 μ M [149]. Oh-defensin from *Ornithoctonus hainana* [150] was tested against bacteria and fungi with MIC values ranging from 1.25 up to 25 μ M. Ayroza *et al.* [151] screened 11 AMPs named juruontoxins from the Amazonian pink spider *Avicularia juruensis*. One of this juruontoxins, juruin, presented notable activity against six strains of fungi with MICs between 2.5-10 μ M. However, juruin did not show any antibacterial effect or hemolytic activity, even at the highest concentration tested (10 μ M).

The antimicrobial action of spider venom peptides is not limited to bacteria and fungi, but also extends to the malaria parasite. Psalmopeotoxin I (PcFK1) and psalmopeotoxin II (PcFK2) isolated from the tarantula *Psalmopeus cambridgei* [152] inhibited the intra-erythrocyte stage of *Plasmodium falciparum in vitro*. The IC₅₀ for inhibiting *P. falciparum* growth with PcFK1 was 1.59 μ M and with PcFK2 the corresponding value was 1.15 μ M. Antifungal or antibacterial activities were observed at 20 μ M, and neither peptide has significant hemolytic activity at 10 μ M.

The evolutionary pressure over millions of years caused a high selectivity of a variety of molecular targets of spider venoms. Allied to the reported stability, which permit many choices of therapeutic administration forms [137], increases the chances of success for innovative leads in drug discovery.

WASPS

The insects of the order Hymenoptera and suborder Apocrita traditionally divide into two groups: 1) Aculeata, which contains several superfamilies, among these Vespoidea, which represents a diverse family of social wasps with estimated 48,000 species (approximately half of which remain undescribed) and whose venom is used to defend themselves and their colonies, and; 2) Parasitica, which are solitary wasps that are predatory and parasitic in order to deposit their eggs in the body cavity of invertebrate hosts, whose venom is used to paralyze the host before oviposition [153-157]. About 3 μ g of venom is released in a wasp sting, and the chemical composition of these venoms is complex, encompassing a mixture of many different compounds, smaller molecules, proteins, enzymes, and peptides. The potential wasp venom-related activities include immune-related diseases, infections, and tumor therapies [153].

In Vespoidea venom, mastoparan is the most abundant and studied peptide, presenting a variety of biological activities such as mast cell degradation, histamine release, and others [158]. As shown in Table 8, many researchers report mastoparan homologous peptides isolated from different species of the genus *Vespa* [46,158-163] and other genera too [15,164-167]. Park *et al.* [158] used mastoparan as a

Table 7. Source, sequence and microorganism species of peptides from spider venom with antimicrobial activity.

Spiders								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Lycosa carolinensis</i>	Lycotoxin I	IWLTKFLGKHA-AKHLAKQQLSKL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. thuringiensis</i>	80-150 μ M <5 μ M	MIC	(+) 100 μ M	[139]
			Fungi	<i>C. glabrata</i> <i>C. albicans</i>	100-150 μ M 100-200 μ M			
<i>Lycosa carolinensis</i>	Lycotoxin II	KIKWFKTMKSIKFI-AKEQMKKHLGGE	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. thuringiensis</i>	<40 μ M 10-60 μ M	MIC	NT	[139]
			Fungi	<i>C. glabrata</i>	100-150 μ M			
<i>Lycosa singoriensis</i>	Lycocitin 1	GKLQAF LAKMKEIAAQTL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	3.2–6.4 μ M 1.6–3.2 μ M	MIC	NT	[140]
<i>Lycosa singoriensis</i>	Lycocitin 2	GRLQAF LAKMKEIAAQTL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	1.5–3.1 μ M 3.14–6.29 μ M 5.02–10.05 μ M	MIC	NT	[140]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	1.25–2.51 μ M			
<i>Lycosa singorensis</i>	Lycosin-I	RKGWFKAMKSIKFI-AKEKLKEHL	Bacteria	-----	-----	-----	-----	[141]
			Fungi					
<i>Lycosa erythrognatha</i>	LyeTx I	IWLTKFLGKKNLGKH-LAKQQLAKL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	7.81 μ M 3.79 μ M	Disk diffusion	(+) 1.3 x 10 ⁻⁴ M (0.00013 μ M)	[142]
			Fungi	<i>C. krusei</i> <i>C. neoformans</i>	26.30 μ M 13.20 μ M	MIC		
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 1	SMWSGMWRRKLKLRN-ALKKKLKGE	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>C. trachomatis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.5 μ M 1 μ M - 1 μ M 4.1 μ M 17 μ M	MIC	(+) 80 μ M	[143,144]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	>33 μ M			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 2a	GLFGKLIKFKGRKAI-SYAVKKARGKH	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>C. trachomatis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.7 μ M 0.4 μ M - 0.7 μ M 6.7 μ M 6.7 μ M	MIC	(+) 6 μ M	[143,144]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	54 μ M			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 3a	SWKSMAKKLKEYMEKLK-QRA	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>C. trachomatis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.3 μ M 1.2 μ M - 1.5 μ M >40 μ M 20 μ M	MIC	(-) 120 μ M	[143,144]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	20 μ M			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 3b	SWASMAKKLKEYMEKLK-QRA	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.7 μ M 2.9 μ M 23 μ M >45 μ M 23 μ M	MIC	(-) 120 μ M	[143]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	23 μ M			

(Table 7) contd...

Spiders								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 4a	GLKDKFKSMGEKLLKQ-YIQTWKAKF	Bactéria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.3 µM 1.1 µM 4.5 µM >35 µM 36 µM	MIC	(-) 120 µM	[143]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	18 µM			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 4b	SLKDKVKSMGEKLLKQ-YIQTWKAKF	Bactéria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>C. trachomatis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	0.3 µM 1.1 µM - 4.4 µM >35 µM >35 µM	MIC	(-) 120 µM	[143,144]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	35 µM			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 5	GFFGKMKEYFKKFGASF-KRRFANLKKRL	Bactéria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>C. trachomatis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	1.1 µM 0.6 µM - 0.6 µM 18 µM >37 µM	MIC	(+) 40 µM	[143,144]
			Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	>37 µM			
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latarcin 6a	QAFQTFKPDWNKIRY-DAMKMQTSLGQMKKRFNL	Bactéria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. pastoris</i>	>70 µM >70 µM >70 µM >70 µM >70 µM	MIC	(-) 120 µM	[143]
	Latarcin 7	GETFDKLKEKLTIFYQKL-VEKAEDLKGDLKAKLS						
<i>Lachesana tarabaei</i>	Cyto-insectotoxin 1a	GFFGNTWKKIKGKADKIM-LKKAVKIMVKKEGISKEE-AQAKVDAMSKKQIRLYL-LKYYGKKALQKASEKL	Bactéria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>M. luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>S. aureus</i> <i>S. marcescens</i>	0.5 µM 0.9 µM 0.9 µM >30 µM 1.9 µM 3.8 µM >30 µM >30 µM	MIC	(+) 6 µM	[145]
<i>Lachesana tarabaei</i>	Latartoxin 1a	ECIPTKHDCNTDRKNCCP-GHECKCYNTQIGGSKK-EQCGCKKSLAKAKNF-GGKVITIFKA	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	>20 µM	MIC	NT	[146]
<i>Oxyopes kitabensis</i>	Oxyopinin 1	FRGLAKLLKIGLKSFAR-VLKKVLP-KAAKAGK-ALAKSMADENAIRQQNQ	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	1.6 µM 6.2 µM	MIC	(-) 50 µM	[147]
<i>Oxyopes kitabensis</i>	Oxyopinin 2b	GKFSGFAKILKSI-AKFFKGVGKVRKGFKEA-SDLDKNQ	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	12.5 µM 6.2 µM	MIC	(-) 50 µM	[147]
<i>Cupiennius salei</i>	Cupiennin 1a	GFGALFKFLAK-KVAKTVAKQAAKQGA-KYVVNKQME	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.3-0.6 µM 2.5-5 µM 0.31-0.63 µM 0.31-0.63 µM	MIC	(+) 24.4 µM	[149]

(Table 7) contd...

Spiders								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Cupiennius salei</i>	Cupiennin 1d	GFGSLFKFLAK-KVAKTVAKQAAKQGA-KYVANKHME	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	0.08-0.16 μ M 1.25-2.5 μ M 0.16-0.31 μ M 0.63-1.25 μ M	MIC	ND	[149]
<i>Oxyopes takobius</i>	Spiderine OtTx1a	KFKWGGKLFSTAKKLYKK-GKKLSKNKNFKKALKKFGK	Bacteria	<i>A. globiformis</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	0.6-1.25 μ M 0.12-0.25 μ M 0.12-0.25 μ M 6-12 μ M	MIC	(+) 8 μ M	[148]
<i>Ornithochnus hainana</i>	Oh-defensin	MLCKLSMFGAVLGPACA-IDCLPMGKTGGSCGEGVCGRKLTfKILWDKKFG	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>B. dysenteriae</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	25 μ g/mL (4.6 μ M) 1.25 μ g/mL (0.2 μ M) 1.25 μ g/mL (0.2 μ M) 5 μ g/mL (0.9 μ M) 1.25 μ g/mL (0.2 μ M) μ M	MIC	(+) 36 μ M	[150]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	1.25 μ g/mL (0.2 μ M)			
<i>Avicularia juruensis</i>	Juruin	FTCAISCDIKVNGKPKKGS-GEKKCSGGWSCKFN-VCVKV	Fungi	<i>A. niger</i> <i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. krusei</i> <i>C. tropicalis</i>	5-10 μ M 2.5-5 μ M 2.5-5 μ M 2.5-5 μ M 2.5-5 μ M 2.5-5 μ M	MIC	(-) 10 μ M	[151]
<i>Psalmopoeus cambridgei</i>	Psalmopeotoxin I (PcFK1)	CGILHDNCVYVPAQNPPC-RGLQCRYGKCLVQV	Parasite	<i>P. falciparum</i>	1.59 μ M	Antiparasitic activity	(-) 10 μ M	[152]
<i>Psalmopoeus cambridgei</i>	Psalmopeotoxin II (PcFK2)	RCLPAGKTCVRGPMRVPC-CGSCSQNKCT	Parasite	<i>P. falciparum</i>	1.15 μ M	Antiparasitic activity	(-) 10 μ M	[152]

control in a work testing the interaction of mastoparan-B from the venom of a hornet with phospholipid bilayers and antimicrobial activity, and discussed the activity for a series of bacterial strains, as well as peptide hemolytic activity, with a change in the form of erythrocytes. Vila-Farres *et al.* [159], testing the *in vitro* activity of several antimicrobial peptides against colistin-susceptible and colistin-resistant *A. baumannii*, tested mastoparan, observing good activity against both strains (4 and 1 mg/L of concentration) and suggesting that mastoparan may be a potential alternative for the treatment of colistin-resistant *A. baumannii* infections. Carter *et al.* [46] reported mastoparan-X activity against *Lactococcus lactis* and *E. coli* (2.5 and 8 μ M). Henriksen *et al.* [160] showed the antimalaria activity of mastoparan-X that was tested against *P. berghei* and *P. falciparum* (50 μ M). Li *et al.* [161] tested synthetic D- and L-enantiomers of mastoparan M originally isolated from hornet wasp venom, showing activities against *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* strains. D-mastoparan M showed 2-fold higher antibacterial activity when compared with L-mastoparan M, and

complete cell lysis after four hours. Yang *et al.* [162], using combined methods of genomics and peptidomics, identified nine peptides from the venom gland of the wasp *Vespa tropica*, and classified two different families of mastoparan (mastoparan-VT1 to -VT7) and vespine chemotactic peptides (VCPs) (VCP-VT1 and -VT2) that exerted broad-spectrum antimicrobial activity against standard and clinically isolated strains of bacteria and showed weak hemolytic activity toward human erythrocytes. A similar work by Chen *et al.* [163] described the *Vespa* mastoparan (MP-VB1) and *Vespa* chemotactic peptide (VESP-VB1) purified and characterized from *Vespa bicolor*, with antimicrobial activities against bacteria and fungi, mast cell degranulation induction, and almost no hemolytic activity. Furthermore, concerning mastoparan homologous peptides from venoms, the work of Cerovsky *et al.* [164] showed potent antimicrobial peptides from the venom of Polistinae wasps and their analogs, four new peptides of the mastoparan family, mastoparan PDD-A and mastoparan PDD-B from *Polistes dorsalis dorsalis*, mastoparan PMM, from *Polistes major major* and mastoparan

Table 8. Source, sequence and microorganism species of peptides from wasp venom with antimicrobial activity.

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Vespa basalis</i> <i>Vespula lewisii</i>	Mastoparan	INLKALAALAKKIL	Bacteria	<i>A. baumannii</i> Colistin-susceptible <i>A. baumannii</i> Colistin-resistant <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. flexneri</i> <i>S. sonnei</i>	4 mg/L (2.7 μ M) 1 mg/L (0.7 μ M) 3.13 mg/L (2.1 μ M) >25 mg/L (>16.9 μ M) 6.25 mg/L (4.2 μ M) >25 mg/L (>16.9 μ M) 6.25 mg/L (4.2 μ M) 6.25 mg/L (4.2 μ M) >25 mg/L (>16.9 μ M) 25 mg/L (16.9 μ M)	MIC	NT	[158,159]
<i>Vespa basalis</i>	Mastoparan B	LKLKSIVSWAKKVL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. flexneri</i> <i>S. sonnei</i>	3.13 mg/L (1.9 μ M) 12.5 mg/L (7.8 μ M) 3.13 mg/L (3.13 μ M) >25 mg/L (>15.5 μ M) 6.25 mg/L (3.9 μ M) 12.5 mg/L (7.8 μ M) 6.25 mg/L (3.9 μ M) 6.25 mg/L (3.9 μ M)	MIC	NT	[158]
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-X	INWKGIAAMAKKLL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>L. lactis</i>	8 μ M 2.5 μ M	MIC	(+) 18 μ M	[46,160]
			Protozoa	<i>P. berghei</i> ookinetes <i>P. falciparum</i> gametocytes	50 μ M 50 μ M	Antimalaria activity		
<i>Vespa mandarinia</i>	Mastoparan M _L -MPM	INKAIAALAKKLL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	12.5 mg/L (9.2 μ M) 12.5 mg/L (9.2 μ M) 6.25 mg/L (4.6 μ M)	MIC	NT	[161]
<i>Vespa mandarinia</i>	Mastoparan M _D -MPM	INKAIAALAKKLL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	6.25 mg/L (4.6 μ M) 6.25 mg/L (4.6 μ M) 3.12 mg/L (3.2 μ M)	MIC	NT	[161]

(Table 8) contd....

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT1 (Mastoparan M)	INLKAIAALAKKLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i>	5 µg/mL (3.4 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
				<i>B. pyocyaneus</i>	40 µg/mL (27 µM)			
				<i>E. cloacae</i>	20 µg/mL (13.5 µM)			
				<i>E. coli</i>	20 µg/mL (13.5 µM)			
				<i>E. faecalis</i>	2.5 µg/mL (1.7 µM)			
				<i>K. pneumonia</i>	10 µg/mL (6.8 µM)			
				<i>P. aeruginosa</i>	5 µg/mL (3.4 µM)			
				<i>S. aureus</i>	5 µg/mL (3.4 µM)			
			Fungi	<i>C. albicans</i>	10 µg/mL (6.8 µM)			
				<i>C. parapsilosis</i>	40 µg/mL (27 µM)			
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT2	NLKAIAALAKKLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i>	20 µg/mL (14.6 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
				<i>B. pyocyaneus</i>	20 µg/mL (14.6 µM)			
				<i>E. cloacae</i>	20 µg/mL (14.6 µM)			
				<i>E. coli</i>	10 µg/mL (7.3 µM)			
				<i>E. faecalis</i>	5 µg/mL (3.7 µM)			
				<i>K. pneumonia</i>	20 µg/mL (14.6 µM)			
				<i>P. aeruginosa</i>	40 µg/mL (29.3 µM)			
				<i>S. aureus</i>	5 µg/mL (3.7 µM)			
			Fungi	<i>C. albicans</i>	10 µg/mL (7.3 µM)			
				<i>C. parapsilosis</i>	40 µg/mL (29.3 µM)			
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT3	INLKAITALAKKLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i>	10 µg/mL (6.6 µM)	MIC	(+) 100 µg/mL (66.3 µM)	[162]
				<i>B. pyocyaneus</i>	10 µg/mL (6.6 µM)			
				<i>E. cloacae</i>	5 µg/mL (3.3 µM)			
				<i>E. faecalis</i>	5 µg/mL (3.3 µM)			
				<i>K. pneumonia</i>	40 µg/mL (26.5 µM)			
				<i>P. aeruginosa</i>	80 µg/mL (53 µM)			
				<i>S. aureus</i>	10 µg/mL (6.6 µM)			
			Fungi	<i>C. albicans</i>	5 µg/mL (3.3 µM)			
				<i>C. parapsilosis</i>	2.5 µg/mL (1.7 µM)			

(Table 8) contd....

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT4	INLKAIAPLAKLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i> <i>B. pyocyaneus</i> <i>E. cloacae</i> <i>K. pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	10 µg/mL (6.6 µM) 10 µg/mL (6.6 µM) 40 µg/mL (26.6 µM) 20 µg/mL (13.3 µM) 10 µg/mL (6.6 µM) 80 µg/mL (53.2 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
			Fungi	<i>C. parapsilosis</i>	20 µg/mL (13.3 µM)			
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT5	VIVKAIATLSKLL	Bacteria	<i>E. cloacae</i> <i>K. pneumonia</i>	80 µg/mL (53.5 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT6	INLKAIAALVKLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. Aureus</i>	20 µg/mL (13.3 µM) 80 µg/mL (53.1 µM) 80 µg/mL (53.1 µM) 40 µg/mL (26.5 µM) 40 µg/mL (26.5 µM) 20 µg/mL (13.3 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	80 µg/mL (53.1 µM) 40 µg/mL (26.5 µM)			
<i>Vespa tropica</i>	Mastoparan-VT7	INLKAIAALARNY	Bacteria	<i>B. pyocyaneus</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. Aureus</i>	80 µg/mL (55.9 µM) 5 µg/mL (3.5 µM) 80 µg/mL (55.9 µM) 80 µg/mL (55.9 µM) 10 µg/mL (10 µM)	MIC	(Little activity in 100 µM)	[162]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	80 µg/mL (55.9 µM)			
<i>Vespa tropica</i>	Vespid chemotactic peptides VCT-VT1	FLPHGKLLSGLL	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i> <i>B. pyocyaneus</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	20 µg/mL (14.5 µM) 10 µg/mL (7.2 µM) 2.5 µg/mL (1.8 µM) 2.5 µg/mL (1.8 µM) 5 µg/mL (3.6 µM) 10 µg/mL (7.2 µM) 40 µg/mL (28.9 µM) 1.2 µg/mL (0.9 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	10 µg/mL (7.2 µM) 2.5 µg/mL (1.8 µM)			

(Table 8) contd....

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Vespa tropica</i>	Vespid chemotactic peptides VCT-VT2	FLPIIGKLLSG	Bacteria	<i>B. dysenteriae</i> <i>B. pyocyaneus</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	5 µg/mL (4.3 µM) 20 µg/mL (17.3 µM) 5 µg/mL (4.3 µM) 2.5 µg/mL (2.2 µM) 20 µg/mL (17.3 µM) 10 µg/mL (8.6 µM) 40 µg/mL (34.6 µM) 2.5 µg/mL (2.2 µM)	MIC	Little activity in 100 µM	[162]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	10 µg/mL (8.6 µM) 5 µg/mL (4.3 µM)			
<i>Vespa bicolor</i>	MP-VB1	INMKASAAVAKLL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	15 µg/mL (10.3 µM) 15 µg/mL (10.3 µM) 3.75 µg/mL (2.6 µg/mL)	MIC	(+) 200 µg/mL (137.3 µM)	[163]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	15 µg/mL (10.3 µM)			
<i>Vespa bicolor</i>	VESP-VB1	FMPIIGRLMSGSL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. Aureus</i>	7.5 µg/mL (5.2 µM) 3.75 µg/mL (2.6 µM) 1.9 µg/mL (1.3 µM)	MIC	(+) 200 µg/mL (140.75 µM)	[163]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	30 µg/mL (21.1 µM)			
<i>Polistes dorsalis dorsalis</i>	Mastoparan PDD-A	INWKKIFEKVKNLV	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	7.5 µM 11.8 µM	MIC	(-) 100 µM	[164]
<i>Polistes dorsalis dorsalis</i>	Mastoparan PDD-B	INWLKLGKKILGAL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	70 µM 15.5 µM	MIC	(+) 45 µM	[164]
<i>Mischocyttarus phthisicus</i>	Mastoparan MP	INWLKLGKKMMSAL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	65 µM 9 µM	MIC	(+) 100 µM	[164]
<i>Polistes major major</i>	Mastoparan PMM	INWKKIASIG-KEVLKAL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	7.3 µM 25.8 µM	MIC	(+) 80 µM	[164]
<i>Anterhynchium flavomarginatum micado</i>	Eumenine mastoparan-AF	INLLKIAKGIIKSL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. subtilis</i>	50 µg/mL (32.83 µM) 20 µg/mL (13.13 µM) 5 µg/mL (3.28 µM) 5 µg/mL (3.28 µM) 5 µg/mL (3.28 µM) 40 µg/mL (26.26 µM)	MIC	NT	[165]

(Table 8) contd....

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Polybia paulista</i>	Polybia-MP-I	IDWKKLLDAAKQIL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	5 μ M 5 μ M 9 μ M	MIC	(+) 5×10^{-5} M (50 μ M)	[15,166]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	16 μ M 8 μ M			
<i>Polybia paulista</i>	Polybia-MP-II	IDWLKLGKMVIDAL	Bacteria	<i>B. cereus</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	5 μ M 5 μ M 38 μ M 2 μ M	MIC	(+) 5×10^{-5} M (50 μ M)	[166]
<i>Polybia paulista</i>	Polybia-MP-III	IDWLKLGKMVMVDVL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>B. cereus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	38 μ M 38 μ M 310 μ M 19 μ M	MIC	NT	[166]
<i>Agelaia pallipes pallipes</i>	Agelaia-MP	INWLKLGKAIIDAL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	237 μ g/mL (151.24 μ M) 382 μ g/mL (243.78 μ M) 257 μ g/mL (164 μ M) 191 μ g/mL (121.89 μ M)	MIC 1567	(+) 156 ng/mL (99553 μ M)	[167]
<i>Agelaia pallipes pallipes</i>	Protonectin	ILGTILGLLKGL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	3.1 μ g/mL (2.56 μ M) 25 μ g/mL (20.66 μ M) 1.7 μ g/mL (1.40 μ M) 12.5 μ g/mL (10.33 μ M)	MIC	(-)	[167]
<i>Polybia Paulista</i>	Polybia-CP	ILGTILGLLKSL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	4 μ M 16 μ M 128 μ M 4 μ M 16 μ M	MIC	NT	[168]
<i>Anoplius samariensis</i> <i>Oreumenes decoratus</i>	Anoplin	GLLKRIKTLL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. saprophyticus</i>	20 μ g/mL (17.36 μ M) >200 μ g/mL (>173.61 μ M) >200 μ g/mL (>173.61 μ M) 50 μ g/mL (43.40 μ M) 20 μ g/mL (17.36 μ M) >200 μ g/mL (>173.61 μ M) 50 μ g/mL (43.40 μ M) 5 μ g/mL (4.34 μ M)	MIC	(-) 200 μ M	[46,169,171]
			Protozoa	<i>P. berghei</i> ookinetes <i>L. major</i>	50 μ M >87 μ M	Ant-malaria activity		
<i>Eumenes rubronotatus</i>	Eumenitin	LNLKGIFKKVASLLT	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. mirabilis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. saprophyticus</i>	60 μ M >60 μ M >60 μ M 6 μ M 30 μ M >60 μ M >60 μ M >60 μ M 6 μ M	MIC	(+) 1 mM (1000 μ M)	[170]

(Table 8) contd....

Wasps								
Source	Peptides	Sequences	Activity against	Microorganism species	Doses	Test	Hemolytic activity	Reference
<i>Oreumenes decoratus</i>	Decoralin	SLLSLIRKLT	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. saprophyticus</i>	40 µM 40 µM 80 µM 40 µM 80 µM 40 µM 40 µM	MIC	(+) 7.9 x 10 ⁻⁵ M (79 µM)	[171]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	40 µM	MIC		
			Protozoa	<i>L. major</i>	72 µM	Anti-parasitic activity		
<i>Vespa crabro</i>	Crabrolin	FLPLILRKIVTAL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	75 µg/mL (50.13 µM) 150 µg/mL (100.27 µM) 300 µg/mL (200.53 µM)	MIC	Little activity in 150 µM	[172]
<i>Polistes dominulus</i>	Dominulin A	INWKKIAEVGGK-ILSSL	Bacteria	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i>	2 µg/mL (1.1 µM) 8 µg/mL (4.3 µM)	MIC	NT	[173]
	Dominulin B	INWKKIAEIGKQV-LSAL						
<i>Nasonia vitripennis</i>	Defensin-NV	VTCELLMFGGVVGDS ACAANCLSMGKAGG SCNGGL- CDCRKTTFKELWDKR FG	Bacteria	<i>S. aureus</i> <i>B. cereus</i> <i>B. dysenteriae</i> <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	0.93 µM 0.93 µM 0.46 µM 1.86 µM 9.3 µM	MIC	(+) 37 µM	[174]
			Fungi	<i>C. albicans</i>	1.86 µM			
<i>Orancistrocerus drewseni</i>	OdVP1 OdVP3	GRILSFIKGLAEHL KDLHTVVSAILQAL	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	≥100 µg/mL (≥ 64 µM)	MIC	NT	[175]
			Fungi	<i>B. cinerea</i> <i>C. albicans</i>	0.5 - 50 µg/mL (3.2 - 32 µM)			
<i>Orancistrocerus drewseni</i>	OdVP2	ILGHTSLLKSLGKK	Bacteria	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	≥100 µg/mL (>63.17 µM) 25 µg/mL (15.79 µM)	MIC	NT	[175]
			Fungi	<i>C. albicans</i> <i>B. cinerea</i>	100 µg/mL (63.17 µM) 0.5 µg/mL (0.32 µM)			

MP, from *Mischocyttarus phthisicus* that were active mainly against *E. coli* and *B. subtilis* at concentrations between 7.3-70 µM. The work of Cabrera *et al.* [165] showed the lytic and antimicrobial activities of peptide Eumenine mastoparan-AF from *Anterhynchium flavomarginatum micado* solitary wasp, which was tested against Gram-positive and Gram-negative strains. The peptides polybia-MP-I, polybia-MP-II, and polybia-MP-III (polyfunctional mastoparan peptides) were isolated from the venom of *Polybia paulista* [15,166] and tested against bacterial and fungal strains. Finally, Mendes *et al.* [167] isolated two peptides from *Agelaia pallipes pallipes*, Agelaia-MP (from the mastoparan family), and Protonectin (from the chemotactic peptide fam-

ily), which were tested against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, and *S. aureus*.

Wasp venom peptides have been extensively investigated using various tests to evaluate antimicrobial applications. In a study about polybia-CP that included the evaluation of antimicrobial properties and mechanism of action [168], this peptide was active against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *B. subtilis* by acting on the membranes of bacteria. Konno *et al.* [169-171] reported the isolation of anoplins, eumenitins, and decoralins from venoms of different species of solitary wasps with antibacterial (Gram-positive and Gram-negative strains), antifungal (*C. albicans*) and antiprotozoal (*Leishmania major*) activities.

Further, the antimalarial activity of anoplin was reported by Carter *et al.* [46] against *P. berghei* ookinetes. Cabrolin from the European hornet *Vespa cabro* [172] was active against *S. aureus*, *B. subtilis*, and *E. coli*, and presented hemolytic activity. Dominulin A and Dominulin B from the social paper wasp *Polistes dominulus* [173] displayed interesting activity against *E. coli* (8 mg/mL) and *B. subtilis* (2 mg/mL). Defensin-NV purified and characterized from the supernatant of *Nasonia vitripennis* venom [174] was active against bacteria and fungi at low concentrations (0.43-9.3 μ M). Three venom peptides (OdVP1, OdVP2 and OdVP3) isolated from the venom of the solitary wasp *Orancistrocerus drewseni* [175] exhibited strong antifungal activities, but poor antibacterial activities.

CONCLUDING REMARKS

A general consensus has been reached about the fact that new technologies are increasing the importance of venom-peptides science in academic studies, since mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) analysis are becoming more sensitive. In this context, even venoms/peptides that are produced in very small amounts are now being properly characterized, enhancing the understanding of the mechanisms of action upon a series of therapeutic targets. Moreover, all *omics* techniques are now providing a huge amount of data, which will serve as a source for bioinformatics prospection of genes, proteins, and metabolites. The venomous animals cited herein provide a considerable amount of genome sequences available: 13 Formicidae families (including ants), ten Apoidea families (including bees and wasps), one Chilopoda class (centipede), one Conoidea family (Conus snail), 19 Arachnida (including scorpions and spiders), and seven Squamata orders (including snakes), accounting for more than 50 genomes that are studied at the moment. Recently, Mojsoska & Jenssen [8] presented a review highlighting the increasing importance of antimicrobial peptides from different sources: human, insect, plants, and bacteria. Additionally, they presented distinct aspects of how peptides (and specific amino acids) interact with the bacterial cell in a very clear manner.

We performed the amino acid alignment of the sequences listed in each group of organisms described herein, using the Clustal-X program, and we observed a trend for the presence of lysine in snake and spider peptides, also at specific positions. In the same way leucine and isoleucine was observed in bee and wasp venoms. Due the high range and variety of scorpion venom peptides, the alignment was inconclusive and considering the low number of the sequences presented by centipedes and cone snail peptides group, it was not possible to perform the alignment. This evaluation is preliminary, but sheds in light some amino acids that may guide the synthesis of new antimicrobials. Considering the importance of toxicity for further steps in drug development, we included, when available, the information of hemolytic activity which is the preliminary information. The hemolysis capacity of peptides was very diverse, some have shown themselves unable to hemolyze erythrocytes while others were active at extremely low concentrations. In general, for hemolytic activity the toxic concentrations of peptides ranged from 0.00013 μ M until 99553 μ M.

Once the bioactive natural peptide is identified, either in biological assays or through computer-based strategies, many options arise to perform the scaling up and structure-activity evaluation, usually by: natural isolation, molecular biology tools, and chemical synthesis of analogues and peptidomimetics. On the other hand, despite the relevant academic advances in the field of peptide science, there are important challenges regarding the production scaling up, especially regarding costs, low reproducibility, and time. Natural isolation of peptides is rarely sustainable, since in most cases the yield is very low, requiring the extraction of high amounts of the natural source. In particular, studies involving structure-activity evaluation (pharmacophore for structural optimization), in order to modulate hydrophobicity, secondary structures and charge, among others, the synthesis of peptides analogues and peptidomimetics is a convenient approach [8].

Bioactive natural peptides are used as scaffolds for rational drug development, by changing the location of specific residues or clusters enabling scanning combinatorial possibilities. Natural peptides are leads for synthesis of compounds that imitate the peptides structure and/or activity, called peptidomimetics, which are becoming trendy, due to the possibility of improvement of stability, bioavailability and immunogenicity. In this case, modifications in the backbone or side chains enable a variety of possibilities of compounds, such as substitutions with unnatural amino acids, β -peptides, peptoids (*N*-substituted glycines), hybrid peptide-peptidomimetic structures, lipidation [8]. Such strategies help to understand the function of each residue in the peptide sequence, but become more expensive for peptides with more than 30 amino acids [120]. In this context, molecular biology tools arise as an alternative approach, such as heterologous expression (usually *E. coli* and *S. cerevisiae*) may produce nontoxic and soluble peptides [176] or systems involving the fusion of carrier proteins, allowing the release of the peptide target [177]. Another very interesting possibility is the *in vivo* peptide circularization, which enables the selection of peptides that decrease the protein-protein interaction in replication [178].

This review listed 170 peptides, to date characterized from crude venoms or cDNA library of venom glands of eight different organisms that were active against bacteria, protozoans, fungi and/or viruses. The potential of venoms as a source of new compounds, including AMPs, is extensively discussed due to the high molecular diversity resulting from the evolution of species to adapt and survive. Increasingly, venom toxins are receiving attention as pharmacological tools and/or therapeutic agents by high specificity and potency for particular targets. Currently, there are six FDA-approved drugs, ten peptides in clinical trials and many others in distinct stages of preclinical development, derived from venom peptides or proteins [179,180]. The advances of the laboratorial equipment and techniques to obtain active components have opened up the area of venoms-based drug discovery. Antimicrobial activity is directly related to the structural properties of venom AMPs and modifications in the peptide structure can optimize the antimicrobial action, mainly against resistant microorganisms, or decrease of the cytotoxicity against mammalian cells. Based on this knowledge, many studies suggest the synthesis of analogues or

peptomimetics, which can offer fast structure modifications for peptide desired optimization. Finally, the search for antimicrobial “weapons” makes the venoms AMPs promising candidates. Importantly, in this field what should be seriously taken into account are global actions to conserve biodiversity in order to exploit, at least, to develop new medicines.

LIST OF ABBREVIATIONS

AMPs	= Antimicrobial Peptides
APD	= Antimicrobial Peptides Database
FDA	= Food and Drug Administration
MIC	= Minimal Inhibitory Concentration
MID	= Minimum Inhibitory Dose
ND	= Not Determined
NT	= Not Tested

CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge to FAPERGS (1008844), MCTI/CNPq 305951/2012-2 and 141723/2013-0 for financial support.

REFERENCES

- [1] Vlieghe, P.; Lisowski, V.; Martinez, J.; Khrestchatsky, M. Synthetic Therapeutic Peptides: Science and Market. *Drug Discov. Today* **2010**, *15* (1-2), 40–56.
- [2] Antosova, Z.; Mackova, M.; Kral, V.; Macek, T. Therapeutic Application of Peptides and Proteins: Parenteral Forever? *Trends Biotechnol.* **2009**, *27* (11), 628–635.
- [3] Brogden, N. K.; Brogden, K. a. Will New Generations of Modified Antimicrobial Peptides Improve Their Potential as Pharmaceuticals? *Int. J. Antimicrob. Agents* **2011**, *38* (3), 217–225.
- [4] Lee, H.; Hwang, J.-S.; Lee, J.; Il Kim, J.; Lee, D. G. Scolopendin 2, a Cationic Antimicrobial Peptide from Centipede, and Its Membrane-Active Mechanism. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes* **2015**, *1848* (2), 634–642.
- [5] Nguyen, L. T.; Haney, E. F.; Vogel, H. J. The Expanding Scope of Antimicrobial Peptide Structures and Their Modes of Action. *Trends Biotechnol.* **2011**, *29* (9), 464–472.
- [6] Wang, Z.; Wang, G. APD: The Antimicrobial Peptide Database. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, D590–D592.
- [7] Li, Y.; Xiang, Q.; Zhang, Q.; Huang, Y.; Su, Z. Overview on the Recent Study of Antimicrobial Peptides: Origins, Functions, Relative Mechanisms and Application. *Peptides* **2012**, *37* (2), 207–215.
- [8] Mojsoska, B.; Jenssen, H. Peptides and Peptidomimetics for Antimicrobial Drug Design. *Pharmaceuticals* **2015**, *8* (3), 366–415.
- [9] da Costa, J. P.; Cova, M.; Ferreira, R.; Vitorino, R. Antimicrobial Peptides: An Alternative for Innovative Medicines? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99* (5), 2023–2040.
- [10] Hadley, E. B.; Hancock, R. E. W. Strategies for the Discovery and Advancement of Novel Cationic Antimicrobial Peptides. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10* (18), 1872–1881.
- [11] Di Luca, M.; Maccari, G.; Nifosi, R. Treatment of Microbial Biofilms in the Post-Antibiotic Era: Prophylactic and Therapeutic Use of Antimicrobial Peptides and Their Design by Bioinformatics Tools. *Pathog. Dis.* **2014**, *70* (3), 257–270.
- [12] Gao, B.; Xu, J.; del Carmen Rodriguez, M.; Lanz-Mendoza, H.; Hernández-Rivas, R.; Du, W.; Zhu, S. Characterization of Two Linear Cationic Antimalarial Peptides in the Scorpion *Mesobuthus Eupeus*. *Biochimie* **2010**, *92* (4), 350–359.
- [13] WHO. Number of people (all ages) living with HIV http://www.who.int/gho/hiv/epidemic_status/cases_all/en/ (accessed Oct 21, 2015).
- [14] Chen, Y.; Cao, L.; Zhong, M.; Zhang, Y.; Han, C.; Li, Q.; Yang, J.; Zhou, D.; Shi, W.; He, B.; *et al.* Anti-HIV-1 Activity of a New Scorpion Venom Peptide Derivative Kn2-7. *PLoS One* **2012**, *7* (4), 1–9.
- [15] Wang, K.; Yan, J.; Dang, W.; Xie, J.; Yan, B.; Yan, W.; Sun, M.; Zhang, B.; Ma, M.; Zhao, Y.; *et al.* Dual Antifungal Properties of Cationic Antimicrobial Peptides Polybia-MPI: Membrane Integrity Disruption and Inhibition of Biofilm Formation. *Peptides* **2014**, *56*, 22–29.
- [16] Bailey, P.; Wilce, J. Venom as a Source of Useful Biologically Active Molecules. *Emerg. Med.* **2001**, *13*, 28–36.
- [17] Fry, B. G.; Roelants, K.; Champagne, D. E.; Scheib, H.; Tyndall, J. D. a; King, G. F.; Nevalainen, T. J.; Norman, J. a; Lewis, R. J.; Norton, R. S.; *et al.* The Toxicogenomic Multiverse: Convergent Recruitment of Proteins into Animal Venoms. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2009**, *10*, 483–511.
- [18] Lewis, R. J.; Dutertre, S.; Vetter, I.; Christie, M. J. Conus Venom Peptide Pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **2012**, *64* (2), 259–298.
- [19] Przybilla, B.; Rüeff, F. Hymenoptera Venom Allergy. *J. Ger. Soc. Dermatology* **2010**, *8*, 114–129.
- [20] Aili, S. R.; Touchard, A.; Escoubas, P.; Padula, M. P.; Orivel, J.; Dejean, A.; Nicholson, G. M. Diversity of Peptide Toxins from Stinging Ant Venoms. *Toxicon* **2014**, *92*, 166–178.
- [21] Ortiz, E.; Gurrola, G. B.; Ferroni, E.; Possani, L. D. Toxicon Scorpion Venom Components as Potential Candidates for Drug Development. *Toxicon* **2015**, *93*, 125–135.
- [22] Reeks, T. A.; Fry, B. G.; Alewood, P. F. Privileged Frameworks from Snake Venom. *Cell. Mol. Life Sci.* **2015**, *72*, 1939–1958.
- [23] Undheim, E.; Fry, B.; King, G. Centipede Venom: Recent Discoveries and Current State of Knowledge. *Toxins (Basel)* **2015**, *7* (3), 679–704.
- [24] Bogin, O. Venom Peptides and Their Mimetics as Potential Drugs. *Modulator* **2005**, *19* (19), 14–20.
- [25] Brady, S. G.; Schultz, T. R.; Fisher, B. L.; Ward, P. S. Evaluating Alternative Hypotheses for the Early Evolution and Diversification of Ants. *PNAS* **2006**, *103* (48), 18172–18177.
- [26] Orivel, J.; Redeker, V.; Caer, J.-P. Le; Krier, F.; Revol-Junelles, A.-M.; Longeon, A.; Chaffotte, A.; Dejean, A.; Rossier, J. Ponericsins, New Antibacterial and Insecticidal Peptides from the Venom of the Ant *Pachycondyla Goeldii*. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276* (21), 17823–17829.
- [27] Pluzhnikov, K. A.; Kozlov, S. A.; Vassilevski, A. A.; Vorontsova, O. V.; Feofanov, A. V.; Grishin, E. V. Biochimie Linear Antimicrobial Peptides from *Ectatomma Quadridens* Ant Venom. *Biochimie* **2014**, *107*, 211–215.
- [28] Ebaid, H.; Al-Khalifa, M.; Isa, A. M.; Gadoa, S. Bioactivity of Samsun Ant (*Pachycondyla Sennaarensis*) Venom against Lipopolysaccharides through Antioxidant and Upregulation of Akt1 Signaling in Rats. *Lipids Health Dis.* **2012**, *11* (1), 93.
- [29] Rifflet, A.; Gavalda, S.; Téné, N.; Orivel, J.; Leprince, J.; Guilhaudis, L.; Génin, E.; Vétillard, A.; Treilhou, M. Peptides Identification and Characterization of a Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Ant *Tetramorium Bicarinatum*. *Peptides* **2012**, *38* (2), 363–370.
- [30] Schmidt, C.; Shattuck, S. The Higher Classification of the Ant Subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a Review of Ponerine Ecology and Behavior. *Zootaxa* **2014**, *18*, 242.
- [31] Cologna, C. T.; Cardoso, J. dos S.; Jourdain, E.; Degueldre, M.; Upert, G.; Gilles, N.; Uetanabaro, A. P. T.; Neto, E. M. C.; Thonart, P.; Pauw, E. de; *et al.* ScienceDirect Peptidomic Comparison and Characterization of the Major Components of the Venom of the Giant Ant *Dinoponera Quadriceps* Collected in Four Different Areas of Brazil. *J. Proteomics* **2013**, *94*, 413–422.
- [32] Donovan, G. R.; Street, M. D.; Baldo, B. a.; Alewood, D.; Alewood, P.; Sutherland, S. Identification of an IgE-Binding Determinant of the Major Allergen Myr P I from the Venom of the Australian Jumper Ant *Myrmecia Pilosula*. *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1204*, 48–52.
- [33] Wu, Q. X.; King, M. a; Donovan, G. R.; Alewood, D.; Alewood, P.; Sawyer, W. H.; Baldo, B. a. Cytotoxicity of Pilosulin 1, a

- Peptide from the Venom of the Jumper Ant *Myrmecia Pilosula*. *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1425 (1), 74–80.
- [34] Zelezetsky, I.; Pag, U.; Antcheva, N.; Sahl, H.; Tossi, A. Identification and Optimization of an Antimicrobial Peptide from the Ant Venom Toxin Pilosulin. *Arch. Biochem. Biophys.* **2005**, 434, 358–364.
- [35] Wanandy, T.; Gueven, N.; Davies, N. W.; Brown, S. G. a.; Wiese, M. D. Pilosulins: A Review of the Structure and Mode of Action of Venom Peptides from an Australian Ant *Myrmecia Pilosula*. *Toxicon* **2015**, 98, 54–61.
- [36] Davies, N. W.; Wiese, M. D.; Brown, S. G. . Characterisation of Major Peptides in “jack Jumper” Ant Venom by Mass Spectrometry. *Toxicon* **2004**, 43 (2), 173–183.
- [37] Inagaki, H.; Akagi, M.; Imai, H. T.; Taylor, R. W.; Kubo, T. Molecular Cloning and Biological Characterization of Novel Antimicrobial Peptides, Pilosulin 3 and Pilosulin 4, from a Species of the Australian Ant Genus *Myrmecia*. *Arch. Biochem. Biophys.* **2004**, 428, 170–178.
- [38] Inagaki, H.; Akagi, M.; Imai, H. T.; Taylor, R. W.; Wiese, M. D.; Davies, N. W.; Kubo, T. Pilosulin 5, a Novel Histamine-Releasing Peptide of the Australian Ant, *Myrmecia Pilosula* (Jack Jumper Ant). *Arch. Biochem. Biophys.* **2008**, 477 (2), 411–416.
- [39] Michener, C. D. *The Bees of the World*; The Johns Hopkins University Press: Maryland, 2007.
- [40] Gajski, G.; Garaj-vrhovac, V. Melittin: A Lytic Peptide with Anticancer Properties. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2013**, 36 (2), 697–705.
- [41] Choi, J. I. H. A. E.; Jang, A. Y.; Lin, S.; Lim, S.; Kim, D.; Park, K.; Han, S. M. I.; Yeo, J. O. O. H.; Seo, H. O. S. Melittin, a Honeybee Venom - Derived Antimicrobial Peptide, May Target Methicillin - Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Mol. Med. Rep.* **2015**, 12, 6483–6490.
- [42] Orsolic, N. Bee Venom in Cancer Therapy. *Cancer Metastasis Rev.* **2012**, 31, 173–194.
- [43] Hwang, D.; Kim, S. K.; Bae, H. Therapeutic Effects of Bee Venom on Immunological and Neurological Diseases. *Toxins (Basel)*. **2015**, 7, 2413–2421.
- [44] Fennell, J. F.; Shipman, W. H.; Cole, L. J. Antibacterial Action of a Bee Venom Fraction (melittin) against a Penicillin-Resistant *Staphylococcus* and Other Microorganisms. *USNRDL* **1967**, 1–13.
- [45] Wachinger, M.; Kleinschmidt, A.; Winder, D.; Von Pechmann, N.; Ludvigsen, A.; Neumann, M.; Holle, R.; Salmons, B.; Erfle, V.; Brack-Werner, R. Antimicrobial Peptides Melittin and Cecropin Inhibit Replication of Human Immunodeficiency Virus 1 by Suppressing Viral Gene Expression. *J. Gen. Virol.* **1998**, 79 (4), 731–740.
- [46] Carter, V.; Underhill, A.; Baber, I.; Sylla, L.; Baby, M.; Larget-Thierry, I.; Zettor, A.; Bourgouin, C.; Langel, Ü.; Faye, I.; *et al.* Killer Bee Molecules: Antimicrobial Peptides as Effector Molecules to Target Sporogonic Stages of *Plasmodium*. *PLoS Pathog.* **2013**, 9 (11), e1003790.
- [47] Alia, O.; Laila, M.; Antonious, A.-D. Honeybee (*Apis mellifera*) Venom and Its Wound Healing Potential. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2013**, 21 (1), 318–324.
- [48] Leandro, L. F.; Mendes, C. A.; Casemiro, L. A. Antimicrobial Activity of Apitoxin, Melittin and Phospholipase A 2 of Honey Bee (*Apis Mellifera*) Venom against Oral Pathogens. *Ann. Brazilian Acad. Sci.* **2015**, 87, 147–155.
- [49] Matanic, V. C. A.; Castilla, V. Antiviral Activity of Antimicrobial Cationic Peptides against Junin Virus and Herpes Simplex Virus. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2004**, 23, 382–389.
- [50] Asthana, N.; Yadav, S. P.; Ghosh, J. K. Dissection of Antibacterial and Toxic Activity of Melittin. *J. Biol. Chem.* **2004**, 279 (53), 55042–55050.
- [51] Cerovsky, V.; Hovorka, O.; Cvacka, J.; Voburka, Z.; Bednarova, L.; Borovickova, L.; Slaninova, J.; Fucik, V. Melectin: A Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Cleptoparasitic Bee *Melecta Albifrons*. *ChemBioChem* **2008**, 9, 2815–2821.
- [52] Cerovsky Václav; Buděšinský, M.; Hovorka, O.; Cvačka, J.; Voburka, Z.; Slaninová, J.; Borovičková, L.; Fučík, V.; Bednářová, L.; Votruba, I.; *et al.* Lasioglossins: Three Novel Antimicrobial Peptides from the Venom of the Eusocial Bee *Lasioglossum Laticeps* (Hymenoptera: Halictidae). *ChemBioChem* **2009**, 10 (12), 2089–2099.
- [53] Monincová, L.; Buděšinský, M.; Slaninová, J.; Hovorka, O.; Cvačka, J.; Voburka, Z.; Fučík, V.; Borovičková, L.; Bednářová, L.; Straka, J.; *et al.* Novel Antimicrobial Peptides from the Venom of the Eusocial Bee *Halictus Sexcinctus* (Hymenoptera: Halictidae) and Their Analogs. *Amino Acids* **2010**, 39 (3), 763–775.
- [54] Monincova, L.; Slaninova, J.; Fucik, V.; Hovorka, O.; Voburka, Z.; Bednarova, L.; Malon, P.; Stokrova, J.; Cerovsky, V. Lasiocapsin, a Novel Cyclic Antimicrobial Peptide from the Venom of Eusocial Bee *Lasioglossum Laticeps* (Hymenoptera: Halictidae). *Amino Acids* **2012**, 43, 751–761.
- [55] Monincova, L.; Cerovsky, V.; Slaninova, J.; Budesinsky, M.; Fucik, V.; Bednarova, L.; Cerovsky, V. Structure – Activity Study of Macropin, a Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of Solitary Bee *Macropis Fulvipes* (Hymenoptera: Melittidae). *PeptideScience* **2014**, 20 (October 2013), 375–384.
- [56] Cujova, S.; Borovickova, L.; Fucik, V.; Bednarova, L.; Stokrova, J.; Hovorka, O.; Voburka, Z.; Straka, J.; Cerovsky, V. Panurgines, Novel Antimicrobial Peptides from the Venom of Communal Bee *Panurgus Calcaratus* (Hymenoptera: Andrenidae). *Amino Acids* **2013**, 45, 143–157.
- [57] Cujova, S.; Bednarova, L.; Slaninova, J.; Straka, J.; Cerovsky, V. Interaction of a Novel Antimicrobial Peptide Isolated from the Venom of Solitary Bee *Colletes Daviesanus* with Phospholipid Vesicles and *Escherichia Coli* Cells. *PeptideScience* **2014**, 20 (August), 885–895.
- [58] Undheim, E. A. B.; King, G. F. Toxicon On the Venom System of Centipedes (Chilopoda), a Neglected Group of Venomous Animals. *Toxicon* **2011**, 57 (4), 512–524.
- [59] Kong, Y. Cytotoxic and Anticoagulant Peptide from *Scolopendra Subspinipes Mutilans* Venom. *African J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, 7 (31), 2238–2245.
- [60] Wenhua, R.; Shuangquan, Z.; Daxiang, S.; Kaiya, Z.; Guang, Y. Induction, Purification and Characterization of an Antibacterial Peptide *Scolopendrin I* from the Venom of Centipede *Scolopendra Subspinipes Mutilans*. *Indian J. Biochem. Biophys.* **2006**, 43, 88–93.
- [61] Peng, K.; Kong, Y.; Zhai, L.; Wu, X.; Jia, P.; Liu, J.; Yu, H. Two Novel Antimicrobial Peptides from Centipede Venoms. *Toxicon* **2010**, 55 (2-3), 274–279.
- [62] Choi, H.; Hwang, J.-S.; Lee, D. G. Identification of a Novel Antimicrobial Peptide, *Scolopendrin 1*, Derived from Centipede *Scolopendra Subspinipes Mutilans* and Its Antifungal Mechanism. *Insect Mol. Biol.* **2014**, 23 (6), 788–799.
- [63] Choi, H.; Hwang, J.; Gun, D. Biochimica et Biophysica Acta Antifungal Effect and Pore-Forming Action of Lactoferricin B like Peptide Derived from Centipede *Scolopendra Subspinipes Mutilans*. *BBA - Biomembr.* **2013**, 1828 (11), 2745–2750.
- [64] Kwon, Y.; Lee, J. H.; Kim, I.; Kim, S.; Yun, E.; Nam, S.; Ahn, M.; Jeong, M.; Kang, D.; Lee, I. H.; *et al.* Antimicrobial Activity of the Synthetic Peptide *Scolopendrasin II* from the Centipede *Scolopendra Subspinipes Mutilans*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, 23 (10), 1381–1385.
- [65] Dutertre, S.; Jin, A. -h.; Kaas, Q.; Jones, a.; Alewood, P. F.; Lewis, R. J. Deep Venomics Reveals the Mechanism for Expanded Peptide Diversity in Cone Snail Venom. *Mol. Cell. Proteomics* **2013**, 12 (2), 312–329.
- [66] Biass, D.; Dutertre, S.; Gerbault, A.; Menou, J.-L.; Offord, R.; Favreau, P.; Stöcklin, R. Comparative Proteomic Study of the Venom of the Piscivorous Cone Snail *Conus Consors*. *J. Proteomics* **2009**, 72 (2), 210–218.
- [67] Davis, J.; Jones, A.; Lewis, R. J. Remarkable Inter- and Intra-Species Complexity of Conotoxins Revealed by LC/MS. *Peptides* **2009**, 30 (7), 1222–1227.
- [68] Calvete, J. J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; María, J. Venoms, Venomics, Antivenomics. *FEBS Lett.* **2009**, 583 (11), 1736–1743.
- [69] Biggs, J. S.; Rosenfeld, Y.; Shai, Y.; Olivera, B. M. Conolysin-Mt: A Conus Peptide That Disrupts Cellular Membranes. *Biochemistry* **2007**, 46, 12586–12593.
- [70] Yang, J.; Lu, Y.; Wu, C.; Tam, J. P. Antimicrobial and Chemotactic Activities of Ro-Conotoxin Cyclic Analogues. *Am. Pept. Soc.* **2001**, 487–488.
- [71] Xu, S.; Li, H.; Shao, X.; Fan, C.; Ericksen, B.; Liu, J.; Chi, C.; Wang, C. Critical Effect of Peptide Cyclization on the Potency of Peptide Inhibitors against Dengue Virus NS2B-NS3 Protease. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 6881–6887.
- [72] Plessis, L. H.; Elgar, D.; Plessis, J. L. Southern African Scorpion Toxins: An Overview. **2008**, 51, 1–9.

- [73] Almaaytah, A.; Albalas, Q. Peptides Scorpion Venom Peptides with No Disulfide Bridges: A Review. *Peptides* **2014**, *51*, 35–45.
- [74] Hmed, B.; Serria, H. T.; Mounir, Z. K. Scorpion Peptides: Potential Use for New Drug Development. *J. Toxicol.* **2013**, 1–15.
- [75] Zhijian, C.; Feng, L.; Yingliang, W.; Xin, M.; Wenxin, L. Genetic Mechanisms of Scorpion Venom Peptide Diversification. **2006**, *47*, 348–355.
- [76] Joseph, B.; George, J. Scorpion Toxins and Its Applications. *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res.* **2012**, *4* (3), 57–61.
- [77] Tseng, B. S.; Zhang, W.; Harrison, J. J.; Quach, T. P.; Song, J. L.; Penterman, J.; Singh, P. K.; Chopp, D. L.; Packman, A. I.; Parsek, M. R. The Extracellular Matrix Protects *Pseudomonas Aeruginosa* Biofilms by Limiting the Penetration of Tobramycin. **2013**, *15*, 2865–2878.
- [78] Conde, R.; Zamudio, F. Z.; Rodrigues, M. H.; Passani, L. D. Scorpine, an Anti-Malaria and Anti-Bacterial Agent Puri & Ed from Scorpion Venom. *FEMS Lett.* **2001**, *471* (2000), 165–168.
- [79] Zhu, S.; Tytgat, J. The Scorpine Family of Defensins: Gene Structure, Alternative Polyadenylation and Fold Recognition. *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61* (14), 1751–1763.
- [80] Uawonggul, N.; Thammasirirak, S.; Chaveerach, A.; Arkaravichien, T.; Bunyatrachata, W.; Ruangjirachuporn, W.; Jearranaiprepame, P.; Nakamura, T.; Matsuda, M.; Kobayashi, M.; *et al.* Purification and Characterization of Heteroscorpine-1 (HS-1) Toxin from *Heterometrus Laoticus* Scorpion Venom. *Toxicon* **2007**, *49* (1), 19–29.
- [81] Diego-García, E.; Abdel-Mottaleb, Y.; Schwartz, E. F.; De La Vega, R. C. R.; Tytgat, J.; Possani, L. D. Cytolytic and K⁺ Channel Blocking Activities of β -KTx and Scorpine-like Peptides Purified from Scorpion Venoms. *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65* (1), 187–200.
- [82] Díaz, P.; D'Suze, G.; Salazar, V.; Sevcik, C.; Shannon, J. D.; Sherman, N. E.; Fox, J. W. Antibacterial Activity of Six Novel Peptides from *Tityus Discrepans* Scorpion Venom. A Fluorescent Probe Study of Microbial Membrane Na⁺ Permeability Changes. *Toxicon* **2009**, *54* (6), 802–817.
- [83] Moerman, L.; Bosteels, S.; Noppe, W.; Willems, J.; Clynen, E.; Schoofs, L.; Thevissen, K.; Tytgat, J.; Eldere, J. Van; Walt, J. Van Der; *et al.* Antibacterial and Antifungal Properties of a -Helical, Cationic Peptides in the Venom of Scorpions from Southern Africa. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *4810*, 4799–4810.
- [84] Torres-larios, A.; Gurrola, G. B.; Zamudio, F. Z.; Possani, L. D. Hadrurin, a New Antimicrobial Peptide from the Venom of the Scorpion *Hadrurus Aztecus*. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *5031*, 5023–5031.
- [85] Corzo, G.; Escoubas, P.; Villegas, E.; Barnham, K. J.; He, W.; Norton, R. S.; Nakajima, T. From Venom of the Scorpion *Pandinus Imperator*. **2001**, *45*, 35–45.
- [86] Hernández-Aponte, C. a.; Silva-Sanchez, J.; Quintero-Hernández, V.; Rodríguez-Romero, A.; Balderas, C.; Possani, L. D.; Gurrola, G. B. Vejovine, a New Antibiotic from the Scorpion Venom of *Vaejovis Mexicanus*. *Toxicon* **2011**, *57* (1), 84–92.
- [87] Zeng, X.-C.; Wang, S.; Nie, Y.; Zhang, L.; Luo, X. Characterization of BmKbpb, a Multifunctional Peptide from the Chinese Scorpion *Mesobuthus Martensii* Karsch: Gaining Insight into a New Mechanism for the Functional Diversification of Scorpion Venom Peptides. *Peptides* **2012**, *33* (1), 44–51.
- [88] Miyashita, M.; Sakai, A.; Matsushita, N.; Hanai, Y.; Nakagawa, Y.; Miyagawa, H. A Novel Amphipathic Linear Peptide with Both Insect Toxicity and Antimicrobial Activity from the Venom of the Scorpion *Isometrus Maculatus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2010**, *74* (2), 364–369.
- [89] Wu, S.; Nie, Y.; Zeng, X.-C.; Cao, H.; Zhang, L.; Zhou, L.; Yang, Y.; Luo, X.; Liu, Y. Genomic and Functional Characterization of Three New Venom Peptides from the Scorpion *Heterometrus Spinifer*. *Peptides* **2014**, *53*, 30–41.
- [90] Nie, Y.; Zeng, X. C.; Yang, Y.; Luo, F.; Luo, X.; Wu, S.; Zhang, L.; Zhou, J. A Novel Class of Antimicrobial Peptides from the Scorpion *Heterometrus Spinifer*. *Peptides* **2012**, *38* (2), 389–394.
- [91] Dai, L.; Yasuda, A.; Naoki, H.; Corzo, G.; Andriantsiferana, M.; Nakajima, T. IsCT, a Novel Cytotoxic Linear Peptide from Scorpion *Opisthacanthus Madagascariensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *286*, 820–825.
- [92] Dai, L.; Corzo, G.; Naoki, H.; Andriantsiferana, M.; Nakajima, T. Purification, Structure-function Analysis, and Molecular Characterization of Novel Linear Peptides from Scorpion *Opisthacanthus Madagascariensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, *293*, 1514–1522.
- [93] Zeng, X.; Wang, S.; Zhu, Y.; Zhu, S.; Li, W. Identification and Functional Characterization of Novel Scorpion Venom Peptides with No Disulfide Bridge from *Buthus Martensii* Karsch. *Peptides* **2004**, *25*, 143–150.
- [94] Gao, B.; Sherman, P.; Luo, L.; Bowie, J.; Zhu, S. Structural and Functional Characterization of Two Genetically Related Meucin Peptides Highlights Evolutionary Divergence and Convergence in Antimicrobial Peptides. *FASEB J.* **2009**, *23* (4), 1230–1245.
- [95] Ramírez-Carreto, S.; Quintero-Hernández, V.; Jiménez-Vargas, J. M.; Corzo, G.; Possani, L. D.; Becerril, B.; Ortiz, E. Gene Cloning and Functional Characterization of Four Novel Antimicrobial-like Peptides from Scorpions of the Family Vaejovidae. *Peptides* **2012**, *34* (2), 290–295.
- [96] Dai, C.; Ma, Y.; Zhao, Z.; Zhao, R.; Wang, Q.; Wu, Y.; Cao, Z.; Li, W. Mucroporin, the First Cationic Host Defense Peptide from the Venom of *Lychas Mucronatus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52* (11), 3967–3972.
- [97] Almaaytah, A.; Zhou, M.; Wang, L.; Chen, T.; Walker, B.; Shaw, C. Antimicrobial/cytolytic Peptides from the Venom of the North African Scorpion, *Androctonus Amoreuxi*: Biochemical and Functional Characterization of Natural Peptides and a Single Site-Substituted Analog. *Peptides* **2012**, *35* (2), 291–299.
- [98] Zhao, Z.; Ma, Y.; Dai, C.; Zhao, R.; Li, S.; Wu, Y.; Cao, Z.; Li, W. Imcroporin, a New Cationic Antimicrobial Peptide from the Venom of the Scorpion *Isometrus Maculatus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53* (8), 3472–3477.
- [99] Yuan, W.; Cao, L.; Ma, Y.; Mao, P.; Wang, W.; Zhao, R.; Wu, Y.; Cao, Z.; Li, W. Cloning and Functional Characterization of a New Antimicrobial Peptide Gene STCT1 from the Venom of the Scorpion *Scorpiops Tibetanus*. *Peptides* **2010**, *31* (1), 22–26.
- [100] Cao, L.; Li, Z.; Zhang, R.; Wu, Y.; Li, W.; Cao, Z. STCT2, a New Antibacterial Peptide Characterized from the Venom of the Scorpion *Scorpiops Tibetanus*. *Peptides* **2012**, *36* (2), 213–220.
- [101] Fan, Z.; Cao, L.; He, Y.; Hu, J.; Di, Z.; Wu, Y.; Li, W.; Cao, Z. Ctriporin, a New Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Peptide from the Venom of the Scorpion *Chaerilus Tricostatus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55* (11), 5220–5229.
- [102] Yan, R.; Zhao, Z.; He, Y.; Wu, L.; Cai, D.; Hong, W.; Wu, Y.; Cao, Z.; Zheng, C.; Li, W. Peptides A New Natural α -Helical Peptide from the Venom of the Scorpion *Heterometrus Petersii* Kills HCV. *Peptides* **2011**, *32* (1), 11–19.
- [103] Zeng, X. C.; Zhou, L.; Shi, W.; Luo, X.; Zhang, L.; Nie, Y.; Wang, J.; Wu, S.; Cao, B.; Cao, H. Three New Antimicrobial Peptides from the Scorpion *Pandinus Imperator*. *Peptides* **2013**, *45*, 28–34.
- [104] Guo, X.; Ma, C.; Du, Q.; Wei, R.; Wang, L.; Zhou, M.; Chen, T.; Shaw, C. Two Peptides, TsAP-1 and TsAP-2, from the Venom of the Brazilian Yellow Scorpion, *Tityus Serrulatus*: Evaluation of Their Antimicrobial and Anticancer Activities. *Biochimie* **2013**, *95* (9), 1784–1794.
- [105] Arpornsuwan, T.; Buasakul, B.; Jaresitthikunchai, J.; Roytrakul, S. Potent and Rapid Antagonococcal Activity of the Venom Peptide BmKn2 and Its Derivatives against Different Maldi Biotype of Multidrug-Resistant *Neisseria Gonorrhoeae*. *Peptides* **2013**, *53*, 315–320.
- [106] Luna-Ramírez, K.; Quintero-Hernández, V.; Vargas-Jaimes, L.; Batista, C. V. F.; Winkel, K. D.; Possani, L. D. Characterization of the Venom from the Australian Scorpion *Urodacus Yaschenkoi*: Molecular Mass Analysis of Components, cDNA Sequences and Peptides with Antimicrobial Activity. *Toxicon* **2013**, *63*, 44–54.
- [107] Hong, W.; Li, T.; Song, Y.; Zhang, R.; Zeng, Z.; Han, S.; Zhang, X.; Wu, Y.; Li, W.; Cao, Z. Inhibitory Activity and Mechanism of Two Scorpion Venom Peptides against Herpes Simplex Virus Type 1. *Antiviral Res.* **2014**, *102*, 1–10.
- [108] Garcia, F.; Villegas, E.; Espino-Solis, G. P.; Rodriguez, A.; Paniagua-Solis, J. F.; Sandoval-Lopez, G.; Possani, L. Di; Corzo, G. Antimicrobial Peptides from Arachnid Venoms and Their Microbicidal Activity in the Presence of Commercial Antibiotics. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **2013**, *66*, 3–10.
- [109] Dueñas-Cuellar, R. A.; Kushmerick, C.; Naves, L. A.; Batista, I. F. C.; Guerrero-Vargas, J. A.; O.R., P. J.; Fontes, W.; Castro, M. S. Cm38: A New Antimicrobial Peptide Active Against *Klebsiella Pneumoniae* Is Homologous to Cn11. *Protein Pept. Lett.* **2015**, *22*, 164–172.

- [110] Shao, J.-H.; Wang, Y.-Q.; Wu, X.-Y.; Jiang, R.; Zhang, R.; Wu, C.-F.; Zhang, J.-H. Cloning, Expression, and Pharmacological Activity of BmK AS, an Active Peptide from Scorpion Buthus Martensii Karsch. *Biotechnol. Lett.* **2007**, *30* (1), 23–29.
- [111] Li, Z.; Xu, X.; Meng, L.; Zhang, Q.; Cao, L.; Li, W.; Wu, Y.; Cao, Z. Hp1404, a New Antimicrobial Peptide from the Scorpion Heterometrus Petersii. *PLoS One* **2014**, *9* (5), e97539.
- [112] de Melo, E. T.; Estrela, A. B.; Santos, E. C. G.; Machado, P. R. L.; Farias, K. J. S.; Torres, T. M.; Carvalho, E.; Lima, J. P. M. S.; Silva-Júnior, A. A.; Barbosa, E. G.; *et al.* Structural Characterization of a Novel Peptide with Antimicrobial Activity from the Venom Gland of the Scorpion Tityus Stigmurus: Stigmurin. *Peptides* **2015**, *68*, 3–10.
- [113] Almaaytah, A.; Tarazi, S.; Alsheyab, F. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Mauriporin, a Multifunctional Scorpion Venom Peptide. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2014**, *20*, 397–408.
- [114] Du, Q.; Hou, X.; Wang, L.; Zhang, Y.; Xi, X.; Wang, H.; Zhou, M.; Duan, J.; Wei, M.; Chen, T.; *et al.* AaeAP1 and AaeAP2: Novel Antimicrobial Peptides from the Venom of the Scorpion, Androctonus Aeneas: Structural Characterisation, Molecular Cloning of Biosynthetic Precursor-Encoding cDNAs and Engineering of Analogues with Enhanced Antimicrobial and Antica. *Toxins (Basel)*. **2015**, *7* (2), 219–237.
- [115] Ramirez-Carreto, S.; Jiménez-Vargas, J. M.; Rivas-Santiago, B.; Corzo, G.; Possani, L. D.; Becerril, B.; Ortiz, E. Peptides from the Scorpion Vaejovis punctatus with Broad Antimicrobial Activity. *Peptides* **2015**, *73*, 51–59.
- [116] Warrell, D. A. Snake Bite. *Lancet* **2010**, *375* (9708), 77–88.
- [117] Jain, D.; Kumar, S. Snake Venom: A Potent Anticancer Agent. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **2012**, *13*, 4855–4860.
- [118] Fernandes-Pedrosa, M. F.; Félix-Silva, J.; Menezes, Y. A. S. Toxins from Venomous Animals: Gene Cloning, Protein Expression and Biotechnological Applications. *An Integr. View Mol. Recognit. Toxinology - From Anal. Proced. to Biomed. Appl.* **2013**, 23–72.
- [119] Koh, D. C. I.; Armugam, A.; Jeyaseelan, K. Review Snake Venom Components and Their Applications in Biomedicine. **2006**, *63*, 3030–3041.
- [120] de Oliveira Junior, N. G.; e Silva Cardoso, M. H.; Franco, O. L. Snake Venoms: Attractive Antimicrobial Proteinaceous Compounds for Therapeutic Purposes. *Cell. Mol. Life Sci.* **2013**, *70* (24), 4645–4658.
- [121] Oguiura, N.; Boni-mitake, M.; Affonso, R.; Zhang, G. *In Vitro* Antibacterial and Hemolytic Activities of Crotaamine, a Small Basic Myotoxin from Rattlesnake Crotalus Durissus. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **2011**, *64* (4), 327–331.
- [122] Gomes, V. M.; Carvalho, A. O.; Cunha, M. Da; Keller, M. N.; Jr, C. B.; Deolindo, P.; Alves, E. W. Purification and Characterization of a Novel Peptide with Antifungal Activity from Bothrops Jararaca Venom. *Toxicon* **2005**, *45*, 817–827.
- [123] Nair, D. G.; Fry, B. G.; Alewood, P.; Kumar, P. P.; Kini, R. M. Antimicrobial Activity of Omwaprin, a New Member of the Waprin Family of Snake Venom Proteins. *Biochem. J.* **2007**, *402* (1), 93–104.
- [124] Wang, Y.; Hong, J.; Liu, X.; Yang, H.; Liu, R.; Wu, J.; Wang, A.; Lin, D.; Lai, R. Snake Cathelicidin from Bungarus Fasciatus Is a Potent Peptide Antibiotics. *PLoS One* **2008**, *3* (9).
- [125] Zhao, H.; Gan, T. X.; Liu, X. D.; Jin, Y.; Lee, W. H.; Shen, J. H.; Zhang, Y. Identification and Characterization of Novel Reptile Cathelicidins from Elapid Snakes. *Peptides* **2008**, *29* (10), 1685–1691.
- [126] Zhang, Y.; Zhao, H.; Yu, G. Y.; Liu, X. D.; Shen, J. H.; Lee, W. H.; Zhang, Y. Structure-Function Relationship of King Cobra Cathelicidin. *Peptides* **2010**, *31* (8), 1488–1493.
- [127] Li, S. A.; Lee, W. H.; Zhang, Y. Efficacy of OH-CATH30 and Its Analogs against Drug-Resistant Bacteria *In Vitro* and in Mouse Models. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56* (6), 3309–3317.
- [128] de Latour, F. a.; Amer, L. S.; Papanastasiou, E. a.; Bishop, B. M.; Hoek, M. L. V. Antimicrobial Activity of the Naja Atra Cathelicidin and Related Small Peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *396* (4), 825–830.
- [129] Amer, L. S.; Bishop, B. M.; van Hoek, M. L. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Cathelicidins and Short, Synthetic Peptides against Francisella. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *396* (2), 246–251.
- [130] Dean, S. N.; Bishop, B. M.; van Hoek, M. L. Natural and Synthetic Cathelicidin Peptides with Anti-Microbial and Anti-Biofilm Activity against Staphylococcus Aureus. *BMC Microbiol.* **2011**, *11* (1), 114.
- [131] Dean, S. N.; Bishop, B. M.; van Hoek, M. L. Susceptibility of Pseudomonas Aeruginosa Biofilm to Alpha-Helical Peptides: D-Enantiomer of LL-37. *Front. Microbiol.* **2011**, *2* (July), 1–11.
- [132] Blower, R. J.; Barksdale, S. M.; van Hoek, M. L. Snake Cathelicidin NA-CATH and Smaller Helical Antimicrobial Peptides Are Effective against Burkholderia Thailandensis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2015**, *9* (7), e0003862.
- [133] Falcao, C. B.; de La Torre, B. G.; Pérez-Peinado, C.; Barron, a. E.; Andreu, D.; Rádis-Baptista, G. Viperidins: A Novel Family of Cathelicidin-Related Peptides from the Venom Gland of South American Pit Vipers. *Amino Acids* **2014**, *46*, 2561–2571.
- [134] Pineda, S. S.; Rupasinghe, D. B.; Ikonomopoulou, M. P.; King, G. F. Medicinal Chemistry. *Future Med. Chem.* **2014**, *6*, 1699–1714.
- [135] Klint, J. K.; Senff, S.; Rupasinghe, D. B.; Yan, S.; Herzig, V.; Nicholson, G. M.; King, G. F. Toxicon Spider-Venom Peptides That Target Voltage-Gated Sodium Channels: Pharmacological Tools and Potential Therapeutic Leads. *Toxicon* **2012**, *60* (4), 478–491.
- [136] King, G. F.; Hardy, M. C. Spider-Venom Peptides: Structure, Pharmacology, and Potential for Control of Insect Pests. *Annu. Rev. Entomol.* **2013**, *58*, 475–496.
- [137] Saez, N. J.; Senff, S.; Jensen, J. E.; Er, S. Y.; Herzig, V.; Rash, L. D.; King, G. F. Spider-Venom Peptides as Therapeutics. *Toxins (Basel)*. **2010**, *2*, 2851–2871.
- [138] Gao, L.; Zhang, J.; Feng, W.; Bao, N.; Song, D.; Zhu, B. Pharmacological Characterisation of Spider Antimicrobial Peptides. *Protein Pept. Lett.* **2005**, *12*, 507–511.
- [139] Yan, L.; Adams, M. E. Lycotoxins, Antimicrobial Peptides from Venom of the Wolf Spider Lycosa Carolinensis Lycotoxins, Antimicrobial Peptides from Venom of the Wolf Spider Lycosa Carolinensis *. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273* (4), 2059–2066.
- [140] Budnik, B. a.; Olsen, J. V.; Egorov, T. a.; Anisimova, V. E.; Galkina, T. G.; Musolyamov, a. K.; Grishin, E. V.; Zubarev, R. a. De Novo Sequencing of Antimicrobial Peptides Isolated from the Venom Glands of the Wolf spider Lycosa Singoriensis. *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39* (2), 193–201.
- [141] Tan H, Ding X, Meng S, Liu C, Wang H, Xia L, Liu Z, L. S. Antimicrobial Potential of Lycosin-I, a Cationic and Amphiphilic Peptide from the Venom of the Spider Lycosa Singorensis. *Curr Mol Med.* **2013**, *13* (6), 900–910.
- [142] Santos, D. M.; Verly, R. M.; Piló-Veloso, D.; de Maria, M.; de Carvalho, M. a. R.; Cisalpino, P. S.; Soares, B. M.; Diniz, C. G.; Farias, L. M.; Moreira, D. F. F.; *et al.* LyeTx I, a Potent Antimicrobial Peptide from the Venom of the Spider Lycosa Erythrognatha. *Amino Acids* **2010**, *39* (1), 135–144.
- [143] Kozlov, S. a.; Vassilevski, A. a.; Feofanov, A. V.; Surovoy, A. Y.; Karpunin, D. V.; Grishin, E. V. Latareins, Antimicrobial and Cytolytic Peptides from the Venom of the Spider Lachesana Tarabaevi (Zodariidae) That Exemplify Biomolecular Diversity. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281* (30), 20983–20992.
- [144] Lazarev, V. N.; Polina, N. F.; Shkarupeta, M. M.; Kostjukova, E. S.; Vassilevski, A. a.; Kozlov, S. a.; Grishin, E. V.; Govorun, V. M. Spider Venom Peptides for Gene Therapy of Chlamydia Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55* (11), 5367–5369.
- [145] Vassilevski, A. A.; Kozlov, S. A.; Samsonova, O. V.; Egorova, N. S.; Karpunin, D. V.; Pluzhnikov, K. A.; Feofanov, A. V.; Grishin, E. V. Cyto-Insectotoxins, a Novel Class of Cytolytic and Insecticidal Peptides from Spider Venom. *Biochem. J.* **2008**, *411* (3), 687–696.
- [146] Kuzmenkov, A. I.; Fedorova, I. M.; Vassilevski, A. a.; Grishin, E. V. Cysteine-Rich Toxins from Lachesana Tarabaevi Spider Venom with Amphiphilic C-Terminal Segments. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2013**, *1828* (2), 724–731.
- [147] Corzo, G.; Villegas, E.; Gómez-Lagunas, F.; Possani, L. D.; Belokoneva, O. S.; Nakajima, T. Oxyopins, Large Amphiphilic Peptides Isolated from the Venom of the Wolf Spider Oxyopes Kitabensis with Cytolytic Properties and Positive Insecticidal Cooperativity with Spider Neurotoxins. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (26), 23627–23637.
- [148] Vassilevski, A. a.; Sachkova, M. Y.; Ignatova, A. a.; Kozlov, S. a.; Feofanov, A. V.; Grishin, E. V. Spider Toxins Comprising Disulfide-Rich and Linear Amphiphilic Domains: A New Class of Molecules Identified in the Lynx Spider Oxyopes Takobius. *FEBS J.* **2013**, *280* (23), 6247–6261.

- [149] Kuhn-Nentwig, L.; Muller, J.; Schaller, J.; Walz, a.; Dathe, M.; Nentwig, W. Cupiennin 1, a New Family of Highly Basic Antimicrobial Peptides in the Venom of the Spider Cupiennius salei (Ctenidae). *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (13), 11208–11216.
- [150] Zhao, H.; Kong, Y.; Wang, H.; Yan, T.; Feng, F.; Bian, J.; Yang, Y.; Yu, H. A Defensin-like Antimicrobial Peptide from the Venoms of Spider, Ornithoctonus Hainana. *J. Pept. Sci.* **2011**, *17* (7), 540–544.
- [151] Ayroza, G.; Ferreira, I. L. C.; Sayegh, R. S. R.; Tashima, A. K.; da Silva Junior, P. I. Juruin: An Antifungal Peptide from the Venom of the Amazonian Pink Toe Spider, Avicularia Juruensis, Which Contains the Inhibitory Cystine Knot Motif. *Front. Microbiol.* **2012**, *3* (September), 1–10.
- [152] Choi, S.; Parent, R.; Guillaume, C.; Deregnaucourt, C.; Delarbre, C.; Ojcius, D. M.; Montagne, J. Isolation and Characterization of Psalmopeotoxin I and II: Two Novel Antimalarial Peptides from the Venom of the Tarantula Psalmopoeus Cambridgei. *FEBS Lett.* **2004**, *572*, 109–117.
- [153] Moreno, M.; Giralt, E. Three Valuable Peptides from Bee and Wasp Venoms for Therapeutic and Biotechnological Use: Melittin, Apamin and Mastoparan. *Toxins (Basel)*. **2015**, *7*, 1126–1150.
- [154] Goulet, H.; Huber, J. T. *Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families*; Agriculture Canada: Canada, 1993.
- [155] Moreau, S. J. M. “It Stings a Bit but It Cleans Well”: Venoms of Hymenoptera and Their Antimicrobial Potential. *J. Insect Physiol.* **2013**, *59*, 186–204.
- [156] O'Neill, K. M. *Solitary Wasps: Behavior and Natural History*; Cornell University Press: New York, 2001.
- [157] Piek, T. *Venoms of the Hymenoptera: Biochemical, Pharmacological and Behavioural Aspects*; Academic Press: London, 1986.
- [158] Park, N. G.; Lee, S.; Yamato, Y.; Sugihara, G. Interaction of Mastoparan-B from Venom of a Hornet in Taiwan with Phospholipid Bilayers and Its Antimicrobial Activity. **1995**, *36*, 793–801.
- [159] Vila-Farres, X.; Garcia de la Maria, C.; López-Rojas, R.; Pachón, J.; Giralt, E.; Vila, J. “In Vitro” Activity of Several Antimicrobial Peptides against Colistin-Susceptible and Resistant A. Baumannii. *Clin. Microbiol. Infect.* **2011**, *18*, 383–387.
- [160] Henriksen, J. R.; Etzerodt, T.; Gjetting, T.; Andresen, T. L. Side Chain Hydrophobicity Modulates Therapeutic Activity and Membrane Selectivity of Antimicrobial Peptide Mastoparan-X. *PLoS One* **2014**, *9* (3), e91007.
- [161] Li, M. L.; Liao, R. W.; Qiu, J. W.; Wang, Z. J.; Wu, T. M. Antimicrobial Activity of Synthetic All-D Mastoparan M. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *13* (3), 203–208.
- [162] Yang, X.; Wang, Y.; Lee, W. H.; Zhang, Y. Antimicrobial Peptides from the Venom Gland of the Social Wasp Vespa Tropica. *Toxicon* **2013**, *74*, 151–157.
- [163] Chen, W.; Yang, X.; Yang, X.; Zhai, L.; Lu, Z.; Liu, J.; Yu, H. Antimicrobial Peptides from the Venoms of Vespa Bicolor Fabricius. *Peptides* **2008**, *29* (11), 1887–1892.
- [164] Cerovsky, V.; Slaninova, J.; Fucik, V.; Hulacova, H.; Borovickova, L.; Jezek, R.; Bednarova, L. New Potent Antimicrobial Peptides from the Venom of Polistinae Wasps and Their Analogs ~ Er. *Peptides* **2008**, *29*, 992–1003.
- [165] Cabrera, M. P. dos S.; Souza, B. M. de; Fontana, R.; Konno, K.; Palma, M. S.; Jr, W. F. de A.; Neto, J. R. Conformation and Lytic Activity of Eumenine Mastoparan: A New Antimicrobial Peptide from Wasp Venom. *J. Pept. Res.* **2004**, *64*, 95–103.
- [166] Souza, B. M. De; Vaso, A.; Maria, V.; Resende, F.; Sergio, M.; Andrade, H.; Perez, M. Peptides Characterization of Two Novel Polyfunctional Mastoparan Peptides from the Venom of the Social Wasp Polybia Paulista. *Peptides* **2009**, *30*, 1387–1395.
- [167] Mendes, M. A.; Souza, B. M. De; Marques, M. R.; Palma, M. S. Structural and Biological Characterization of Two Novel Peptides from the Venom of the Neotropical Social Wasp Agelaia Pallipes Pallipes. *Toxicon* **2004**, *44*, 67–74.
- [168] Wang, K.; Yan, J.; Chen, R.; Dang, W.; Zhang, B.; Zhang, W.; Song, J.; Wang, R. Membrane-Active Action Mode of Polybia-CP, a Novel Antimicrobial Peptide Isolated from the Venom of Polybia Paulista. **2012**, *56* (6), 3318–3323.
- [169] Konno, K.; Hisada, M.; Fontana, R.; Lorenzi, C. C. B. Anoplin, a Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Solitary Wasp Anoplius Samariensis. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1550*, 70–80.
- [170] Konno, K.; Hisada, M.; Naoki, H.; Itagaki, Y.; Fontana, R.; Rangel, M.; Stolarz, J.; Hide, I. Eumenitin, a Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Solitary Eumenine Wasp Eumenes Rubronotatus. *Peptides* **2006**, *27*, 2624–2631.
- [171] Konno, K.; Rangel, M.; Stolarz, J.; Perez, M.; Fontana, R.; Yoshico, I. Decoralin, a Novel Linear Cationic α -Helical Peptide from the Venom of the Solitary Eumenine Wasp Oreumenes Decoratus. *Peptides* **2007**, *28*, 2320–2327.
- [172] Krishnakumari, V.; Nagaraj, R. Antimicrobial and Hemolytic Activities of Crabrolin, a 13-Residue Peptide from the Venom of the European Hornet, Vespa Crabro, and Its Analogs. *J. Pept. Res.* **1997**, *50* (2), 88–93.
- [173] Turillazzi, S.; Mastrobuoni, G.; Dani, F. R.; Moneti, G.; Pieraccini, G.; Marca, G.; Perito, B.; Lambardi, D.; Cavallini, V.; Dapporto, L. Dominulin A and B: Two New Antibacterial Peptides Identified on the Cuticle and in the Venom of the Social Paper Wasp. *Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 376–383.
- [174] Ye, J.; Zhao, H.; Wang, H.; Bian, J.; Zheng, R. A Defensin Antimicrobial Peptide from the Venoms of Nasonia Vitripennis. *Toxicon* **2010**, *56* (1), 101–106.
- [175] Baek, J. H.; Lee, S. H. Isolation and Molecular Cloning of Venom Peptides from Orancistrocerus Drewseni (Hymenoptera: Eumenidae). *Toxicon* **2010**, *55* (4), 711–718.
- [176] Rao, X. C.; Li, S.; Hu, J. C.; Jin, X. L.; Hu, X. M.; Huang, J. J.; Chen, Z. J.; Zhu, J. M.; Hu, F. Q. A Novel Carrier Molecule for High-Level Expression of Peptide Antibiotics in Escherichia Coli. *Protein Expr. Purif.* **2004**, *36* (1), 11–18.
- [177] Silva, O. N.; Mulder, K. C. L.; Barbosa, A. E. A. D.; Otero-Gonzalez, J. A.; Lopez-Abarrategui, Rezende, T. M. B. C.; Dias, S. C.; Franco, O. L. Exploring the Pharmacological Potential of Promiscuous Host-Defense Peptides: From Natural Screenings to Biotechnological Applications. *Front. Microbiol.* **2011**, *2* (November), 1–14.
- [178] Kjelstrup, S.; Hansen, P. M. P.; Thomsen, L. E.; Hansen, P. R.; Løbner-Olesen, A. Cyclic Peptide Inhibitors of the β -Sliding Clamp in Staphylococcus Aureus. *PLoS One* **2013**, *8* (9).
- [179] King, G. Venoms as a Platform for Human Drugs: Translating Toxins into Therapeutics. *Expert Opin Biol Ther.* **2011**, *11* (11), 1469–1484.
- [180] King, G. Venoms to Drugs: Translating Venom Peptides into Therapeutics. *Aust. Biochem.* **2013**, *44* (3), 13–16.

IV – CAPÍTULO 2 – Antimicrobial and antibiofilm activities of analogs peptides from snake venoms

Artigo a ser submetido para publicação.

ANTIMICROBIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF SNAKE VENOMS ANALOGS PEPTIDES

Muriel Primon-Barros¹, Alexandre J. Macedo^{1,2*}

Affiliation

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91509-900, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

***Corresponding author:** Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Phone: +55 51 33085354. E-mail address: alexande.macedo@ufrgs.br

ABSTRACT

Antimicrobial peptides (AMPs) are host defense peptides that provide protection against pathogenic microbes. Animal venoms are a rich source of AMPs. Biofilm formation is a virulence factor of pathogenic bacteria infections. Antimicrobial and antibiofilm activities of analogs peptides from snake venoms were investigated. Was analyzed the alignment of 170 amino acid sequences of peptides from animal venoms and 18 snake venoms analogs were synthesized and tested. The peptide 16 presented antimicrobial activity against sensitive and resistant gram-positive strains. To *S. epidermidis* the peptides 1, 2, 3, 4, 12, 13 and 16 presented less than 50% of biofilm formation and the peptides 2, 3 and 16 reduced the established biofilm. The cytotoxicity and hemolytic activity were tested and the active peptides 2 and 16 presented significant cytotoxicity and hemolysis in comparison with the controls. The amino acids position can contribute to the activities. More tests are required to understand the relation of the amino acids positions in the antimicrobial and antibiofilm actions.

IV – CAPÍTULO 3 - Remarkable activity of snake venoms against bacterial pathogenic biofilms

Manuscrito a ser submetido para publicação.

REMARKABLE ACTIVITY OF SNAKE VENOMS AGAINST BACTERIAL PATHOGENIC BIOFILMS

Muriel Primon-Barros¹, Maria Lúcia Machado Alves², Acácia Winter², Alexandre J.
Macedo^{1,3*}

Affiliation

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Núcleo Regional de Ofiologia de Porto Alegre (NOPA), Fundação de Zoobotânica. Av. Dr. Salvador França, 1427, 90690-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

³ Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91509-900, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

***Corresponding author:** Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Phone: +55 51 33085354. E-mail address: alexande.macedo@ufrgs.br

ABSTRACT

Venoms offers a wide structural diversity with potential pharmacological applications and snake venoms are a complex combination of different molecules. Bacterial biofilms attach biotic or abiotic surfaces being more resistant to antibiotics than planktonic cells. The activity of seventeen different snake venoms, two species of scorpions and three of marine anemone, as well as the secretions of three frog skin species were also tested against four bacteria strains. A considerable antibiofilm formation and eradication of established biofilm activities were verified against *S. aureus*, *S. epidermidis* and *E. cloacae* strains by all snake venoms tested, in different concentrations. Further, an initial fractionation was performed and the best conditions were selected to make a refractionation, where 27 fractions of *B. diporus* venom were tested and the fractions 8, 14 and 23 were that in common presented activities less than 50% of biofilm formation and less than 80% of established biofilm remained against the strains tested. These data indicate the ability of venoms, especially from *B. diporus* snake to be potential sources of molecules as a strategy to combat bacterial pathogens biofilms.

V - DISCUSSÃO GERAL_____

Este estudo aborda o potencial de venenos animais como fonte complexa de uma grande quantidade de moléculas, que podem apresentar inúmeras atividades biotecnológicas e farmacológicas inéditas, incluindo àquelas relacionadas com as diferentes estratégias de prevenção da formação e de erradicação de biofilmes bacterianos patogênicos, que podem se formar em superfícies bióticas do organismo ou abióticas de implantes e dispositivos médicos, aumentando os riscos de morbidade e mortalidade na clínica, assim como aumentar os custos à saúde pública e tempo de internação.

Atualmente, existem seis medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), dez peptídeos em ensaios clínicos e muitos outros em distintos estágios de desenvolvimento pré-clínico, derivados de proteínas ou peptídeos de venenos (KING, 2011, 2013). O Captopril®, utilizado para o tratamento de hipertensão, inibidor da enzima conversora de angiotensina I (ECA) é o exemplo mais bem-sucedido de um produto farmacêutico a partir de um peptídeo isolado, na década de 1950, do veneno da serpente brasileira *Bothrops jararaca* brasileira em a década de 1950 (CALVETE et al., 2009). Em 1982, a pesquisa rendeu ao professor coordenador o Prêmio Nobel de Medicina e atualmente é listado como um dos 20 medicamentos mais vendidos no mundo (REEKS; FRY; ALEWOOD, 2015).

Conforme descrito no Capítulo 1, inúmeros estudos relatam a atividade antimicrobiana (contra bactérias, vírus, protozoários e fungos) de 170 peptídeos isolados de venenos de oito diferentes animais. As novas tecnologias de análises, como a espectrometria de massa (MS) e análise de ressonância magnética nuclear (RMN) estão cada vez mais sensíveis, facilitando a pesquisa e aumentando a importância do estudo de venenos, peptídeos oriundos destes e também os sintéticos produzidos a partir destes. Neste contexto, mesmo que os venenos sejam produzidos em quantidades muito pequenas, eles podem ser adequadamente caracterizados, aumentando a compreensão das possíveis vias de ação sobre uma série de alvos terapêuticos.

Recentemente, Mojsoska e Jenssen (2015) apresentaram uma revisão destacando a crescente importância de peptídeos antimicrobianos oriundos de diferentes fontes: humana, insetos, plantas e bactérias. Além disso, eles

apresentaram aspectos distintos de peptídeos (como e aminoácidos específicos) que podem interagir com a célula bacteriana de uma forma muito clara. Em outro estudo recente, Pletzer e colaboradores (2016) descrevem peptídeos com atividade antibiofilme como uma nova abordagem muito promissora para o tratamento de infecções relacionadas, pela capacidade de interferir nas diversas fases de formação e crescimento do biofilme. Peptídeos ativos podem possuir amplo espectro, inibindo tanto bactérias gram-positivas, quando gram-negativas em biofilmes, assim como podem atuar de maneira sinérgica com antimicrobianos convencionais. Este estudo, lista peptídeos com promissoras propriedades antibiofilme, recentemente descritos, conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Estudos recentes sobre peptídeos com atividade antibiofilme específica (adaptado de PLETZER; COLEMAN; HANCOCK, 2016).

Peptídeo	Concentrações inibitórias mínimas	Concentrações ativas em biofilme	Atividade contra
KT2 e RT2	5-18 μM	1 μM^b	<i>E. coli</i>
SB056 e derivados	10 - >40 μM	5-20 μM^c	<i>S. epidermidis</i> <i>P. aeruginosa</i>
Lipopetídeo 3 cíclico	22-55 μM	4 μM^b	<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i>
LL-37 e derivados	32 $\mu\text{g/mL}$	1-16 $\mu\text{g/mL}^c$	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>
IDR-1018	8-128 $\mu\text{g/mL}$	2-8 $\mu\text{g/mL}^a$	<i>A. baumannii</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. entérica</i> <i>S. aureus</i>
DJK-5	1.6-16 $\mu\text{g/mL}$	0.8-4 $\mu\text{g/mL}^a$	Idem IDR-1018
DJK-6	4-16 $\mu\text{g/mL}$	0.5-8 $\mu\text{g/mL}^a$	Idem IDR-1018

^aConcentrações inibitórias mínimas de biofilme

^bConcentrações ativas em células de fluxo

^cConcentrações que mostram a inibição de biofilmes

Peptídeos naturais bioativos são usados como modelos para o desenvolvimento racional de medicamentos. Alterando a localização de resíduos ou grupos específicos, aumenta-se as possibilidades combinatórias para a síntese de compostos que imitam a estrutura e /ou atividade desses, os chamados peptídeomiméticos, os quais se estão a tornando-se uma tendência, devido à possibilidade de melhoria da estabilidade, biodisponibilidade e imunogenicidade (MOJSOSKA; JENSSEN, 2015).

Considerando as sequências dos peptídeos listados na revisão apresentada no Capítulo 1, o Capítulo 2 traz o alinhamento dessas sequências de aminoácidos destes peptídeos. Como os peptídeos oriundos de serpentes foram os mais similares entre si, estes foram escolhidos para dar origem a 18 análogos que foram e testados contra bactérias patogênicas formadores de biofilme. Muitos estudos sintetizam análogos de peptídeos de venenos para testar a atividade antimicrobiana. Cerovsky et al. (2008) isolaram quatro novos peptídeos da família mastoparana (de venenos de vespa) com uma potente atividade antimicrobiana. A partir destes, 40 análogos foram testados para correlacionar com a atividade antimicrobiana encontrada. Da mesma forma, Zhang et al. (2010) testaram o peptídeo OH-CATH (isolado da *king* cobra) e seis análogos para explorar as suas relações estrutura-função baseadas em atividades bactericidas e hemolíticas.

A atividade antimicrobiana do peptídeo 16 foi verificada contra cepas sensíveis e resistentes de *S. aureus* e *S. epidermidis*. Os valores de MIC e MBC também foram obtidos. A matriz do biofilme e a viabilidade celular no biofilme foram medidas para avaliar tanto a atividade antibiofilme, quando a erradicação do biofilme pré-estabelecido. Para *S. aureus* o peptídeo 16 reduziu a formação do biofilme, mas não reduziu o biofilme pré-estabelecido. Para *S. epidermidis* os peptídeos 1, 2, 3, 4, 12, 13 e 16 apresentaram menos de 50% de formação de biofilme e os peptídeos 2, 3 e 16 reduziram o biofilme estabelecido, especialmente o peptídeo 2. Não foram observadas atividades significativas para as cepas Gram-negativas *E. cloacae* e *P. aeruginosa*. Poucos estudos relatam a atividade do antibiofilme de peptídeos ou análogos de venenos. A capacidade de erradicação do biofilme pré-estabelecido ainda não foi relatada. O peptídeo Mauriporin, isolado do veneno de escorpião, foi capaz de prevenir a formação de biofilmes de *P. aeruginosa* numa concentração de 500 µM (ALMAAYTAH, TARAZI, ALSHEYAB, 2014). Dean et al. (2011) testaram as atividades antimicrobianas e de antibiofilme contra *S. aureus* de NA-CATH (uma catelicidina helicoidal da cobra *Naja atra*), uma série de peptídeos curtos (ATRA-1, -2, -1A) e um peptídeo sintético NA-CATH: ATRA1-ATRA1) que foram sintetizados para explorar a importância dos resíduos conservados para a atividade antimicrobiana. O peptídeo NA-CATH: ATRA1-ATRA1 inibiu a produção de biofilme de *S. aureus* em baixas concentrações (0,1-10 µg / mL ou 0,24-2,4 µM), apresentando também baixa citotoxicidade contra células hospedeiras. Por outro

lado, esses peptídeos não inibiram a formação de biofilme de *P. aeruginosa* (DEAN, BISHOP, VAN HOEK, 2011a), como também verificado neste estudo.

Exclusivamente, o peptídeo 16 (VIGVTIPF), uma sequência de aminoácidos em série do peptídeo de crotalicidina, isolado do veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus* (FALCAO et al., 2014) mostrou atividade antimicrobiana contra cepas Gram-positivas. É possível observar que a presença de aminoácidos treonina (T) e isoleucina (I) em uma determinada posição (TI) é essencial para a atividade e é o que difere dos peptídeos 17 (VIGVTFPF) e 18 (VIGVSIPF). Para a atividade antibiofilme o peptídeo 2 (KRFKKFFMKLK), uma sequência de aminoácidos em série do peptídeo Pt_CRAMP1, isolado do veneno de *Pseudonaja textilis* (FALCAO et al., 2014) foi a que apresentou a melhor atividade antiformação e de erradicação do biofilme. Neste caso, a posição da metionina (M) parece colaborar com as melhores atividades em comparação com os peptídeos 1 (KRFKKFFKKVK) e 3 (KRFKKFFKKLK). Ambos os peptídeos que originam as sequências de peptídeos ativos foram relatados por Falcao et al. (2014), pertencente às viperacidinas, uma família de peptídeos relacionados à catelicidina, isolada da glândula de veneno de víboras de piton da América do Sul que apresentaram atividades antimicrobianas contra diferentes bactérias, incluindo as cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Cada um dos aminoácidos sozinho ou em sinergia com os aminoácidos vizinhos contribui para as propriedades antimicrobianas observadas conservadas nos peptídeos. Na pesquisa contínua de novos fármacos antimicrobianos, os peptídeos antimicrobianos servem como um farmacóforo para otimização estrutural (MOJSOSKA; JENSSEN, 2015).

Diante da rica fauna brasileira, que apresenta 55 espécies de serpentes venenosas, dos gêneros *Micrurus*, *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis* (BERNARDE, 2011) e dos inúmeros estudos apresentados na literatura sobre a diversidade de moléculas que estes venenos podem conter e as mais variadas atividades farmacológicas descritas (FERNANDES-PEDROSA; FÉLIX-SILVA; MENEZES, 2013), 17 venenos oriundos de serpentes, dois de escorpiões, três de anêmonas marinhas e secreções de pele de sapo tiveram as atividades antiformação e erradicação de biofilmes testadas contra quatro diferentes cepas formadoras de biofilmes relatadas na clínica. Foi possível verificar consideráveis atividades contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. cloacae* por todos os venenos testados, em diferentes

concentrações, considerando a análise da matriz exopolimérica e a viabilidade celular do biofilme. Algumas amostras testadas, como os venenos de *B. diporus* e *B. pubescens* (10 µg/mL) inibiram mais de 99% da formação de biofilmes de *S. epidermidis*. Para *S. aureus* e *E. cloacae* estes mesmos dois venenos (100 µg/mL) inibiram mais de 80% da formação. Todos os venenos testados apresentaram atividade de erradicação (200 e 100 µg/mL) pela redução da porcentagem de matriz exopolimérica e viabilidade das células de biofilmes estabelecidos de *S. aureus*. Quase o mesmo perfil de atividade foi verificada contra *E. cloacae* (exceto *M. altirostris*). Um fracionamento inicial foi realizado testando diferentes colunas e faixas de pH dos tampões. Foram escolhidas as melhores condições obtidas para a realização de um novo fracionamento otimizado, com a obtenção de picos mais separados no cromatograma e maior número de frações. Por apresentar previamente as melhores atividades, anteriores, 27 frações do veneno de *B. diporus* foram testadas. As frações 8, 14 e 23 apresentaram atividades comuns com menos de 50% de formação de biofilme e menos de 80% do biofilme estabelecido contra as cepas testadas. Estes dados indicam a capacidade de venenos de serpentes como potenciais fontes de moléculas como uma estratégia para combater os biofilmes bacterianos patogênicos.

Nas análises de por HPLC-DAD-MS, foram encontrados três tipos de tripeptídeos nos venenos de todas as espécies de *Bothrops* analisadas. Estes compostos foram descritos previamente em *B. jararaca*, *B. insularis*, *B. jararacussu*, *B. asper* e outros, sendo descritos como metalopeptídeos com diferentes atividades biológicas (CINTRA; VIEIRA; GIGLIO, 1990; MARQUES-PORTO; LEBRUN; PIMENTA, 2008; MUNAWAR et al., 2011). Ainda, no veneno de *B. jararaca* foi sugerido a presença de pGlu-Lys-Trp-Ala-Pro (piroglutamato-lisina-triptofano-alanina-prolina), que já foi descrito previamente para esta espécie por lanzer et al (2004).. A presença de ZARPPHPPIPP (1189 Da), Pro-Asp-Trp-Pro- Hst-Pro (760 Da), ZARPPHPPIPPAP (1357 Da) e ZGGWPRPGPEIPP (1370 Da) nos picos 8, 9, 10 e 11, deste mesmo veneno também foi presumida, as quais já foram descritas previamente (MARQUES-PORTO; LEBRUN; PIMENTA, 2008; NICOLAU et al., 2016) (Pimenta et al., 2007, Nicolau et al., 2017). O pico 14 com alta intensidade no cromatograma obtido para *B. alternatus* é compatível com o tripeptídeo Pro-Asp-Trp (ácido prolina-aspártico-triptofano), que foi caracterizado em venenos de outras

espécies de serpentes (MUNEKIYO; MACKESSY, 2005). As proteínas detectadas na amostra de *M. altirostris* apresentaram uma gama de massas de 5,140 a 7,311 Da, algumas das quais já foram sequenciadas a partir de *M. altirostris* e *M. fulvius* (CORRÊA-NETTO et al., 2011; VERGARA et al., 2014). Já para *C. d. terrificus* o pico mais intenso (28) foi compatível com o peptídeo composto de 42 aminoácidos e amplamente descrito para *C. d. terrificus*, crotamina (YKQCHKKGGHCFPKEKICLPPSSDFGKMDCRWRWKCKGSG) (RÁDIS-BAPTISTA et al., 2004).

Existem poucos estudos envolvendo venenos animais e biofilmes. Um estudo recente mostrou a atividade de um tipo de C-lectina de *B. jararacussu* contra biofilmes de estafilococos que causam a mastite (KLEIN; FABRES-KLEIN; OLIVEIRA, 2015). Em outros estudos, uma catelicidina helicoidal denominada NA-CATH, identificada no veneno da Cobra Chinesa, *Naja atra* e o peptídeo sintético, NA-CATH:ATRA1-ATRA1, apresentaram atividade antibiofilme contra *S. aureus*, onde foi observada uma inibição da formação de biofilme até ~ 50% (10 µg /mL) para NA-CATH e uma inibição ~ 60% (1 µg /mL) para NA-CATH:ATRA1-ATRA1 (DEAN; BISHOP; VAN HOEK, 2011b), porém esses peptídeos não foram capazes de inibir biofilme *P. aeruginosa* (DEAN; BISHOP; VAN HOEK, 2011a). Almaaytah e colaboradores (2014) relataram um peptídeo de veneno de escorpião *Androctonus mauritanicus*, mauriporin, com atividade antibiofilme contra *P. aeruginosa* com 2% de células viáveis e 7% de biomassa de biofilme usando 500 µM de solução de peptídeo.

As estratégias de combate de infecções biofilme patogênicas exigem novas moléculas, biomateriais e/ou metodologias para prevenção ou tratamento de biofilme bacteriano. Este estudo relata a capacidade de venenos como fonte de novas moléculas contra biofilme patogênico.

VI - CONCLUSÕES

É possível concluir que os resultados obtidos neste trabalho:

- Evidenciam a capacidade de diferentes venenos oriundos de animais serem fontes de novas moléculas ativas, principalmente peptídeos, contra bactérias patogênicas;
- Oferecem base teórica, através da revisão apresentada, para o desenvolvimento de outros estudos correlacionados;
- Mostram as atividades antimicrobiana, antif formação e erradicação de biofilmes, atividade hemolítica e citotoxicidade de sequências de peptídeos sintéticos obtidos através de alinhamento computacional de peptídeos oriundos de venenos de serpentes listados em revisão bibliográfica;
- Relatam pela primeira vez a considerável atividade antif formação e erradicação de biofilmes bacterianos patogênicos de seis diferentes venenos de serpentes encontradas no Brasil e frações;
- Caracterizam os principais componentes dos venenos;
- Demonstram a necessidade da pesquisa de novas moléculas, biomateriais e/ou metodologias para o combate de biofilmes bacterianos patogênicos.

Visando obter outros resultados que corroborem com o estudo aqui apresentado, espera-se:

- Testar as frações obtidas dos venenos de *B. alternatu*, *B. diporus*, *B. jararaca*, *B. pubescens*, *C. d. terrificus* e *M. altirostris* e identificar os componentes ativos;
- Avaliar as atividades antibacteriana, anti formação e erradicação de sequências de aminoácidos em comum de peptídeos de venenos de serpentes com atividade antimicrobiana;
- Verificar possíveis vias de ação envolvidas nas atividades apresentadas.

VII - REFERÊNCIAS

- AILI, S. R. et al. Diversity of peptide toxins from stinging ant venoms. **Toxicon**, v. 92, p. 166–178, 2014.
- ALIPOUR, M.; SUNTRES, Z. E.; OMRI, A. Importance of DNase and alginate lyase for enhancing free and liposome encapsulated aminoglycoside activity against *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. May, p. 317–325, 2009.
- ALMAAYTAH, A.; TARAZI, S.; ALSHEYAB, F. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Mauriporin , a Multifunctional Scorpion Venom Peptide. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 20, p. 397–408, 2014.
- ANDERL, J. N.; FRANKLIN, M. J. Role of Antibiotic Penetration Limitation in *Klebsiella pneumoniae* Biofilm Resistance to Ampicillin and Ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 7, p. 1818–1824, 2000.
- ARCHER, N. K. et al. Properties , regulation and roles in human disease *Staphylococcus aureus* biofilms. **Virulence**, n. October, p. 445–459, 2011.
- ARNOLD, J. W.; BAILEY, G. W. Surface Finishes on Stainless Steel Reduce Bacterial Attachment and Early Biofilm Formation : Scanning Electron and Atomic Force Microscopy Study. **Poultry Science**, v. 79, p. 1839–1845, 2000.
- ATS. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. **American Journal of Respiratory Critical Care Medical**, v. 171, p. 388–416, 2005.
- BAILEY, P.; WILCE, J. Venom as a source of useful biologically active molecules. **Emergency Medicine**, v. 13, p. 28–36, 2001.
- BANIN, E. et al. The potential of desferrioxamine-gallium as an anti-*Pseudomonas* therapeutic agent. **PNAS**, v. 105, n. 43, p. 16761–16766, 2008.
- BERNARDE, P. S. Mudanças na Classificação De Serpentes Peçonhentas Brasileiras e Suas Implicações Peçonhentas Na Literatura Médica. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 81, n. 1, p. 55–63, 2011.
- BJARNSHOLT, T. et al. *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin , hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. **Microbiology**, n. 2005, p. 373–383, 2005.
- BJARNSHOLT, T. et al. The in vivo biofilm. **Trends in Microbiology**, v. 21, n. 9, p. 466–474, 2013.

- BLAIOTTA, G. et al. Diversity of Staphylococcus species strains based on partial kat (catalase) gene sequences and design of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (S. aureus, S. delphini, S. . **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 192–201, 2010.
- BOGIN, O. Venom Peptides and their Mimetics as Potential Drugs. **Modulator**, v. 19, n. 19, p. 14–20, 2005.
- BONOMO, R. A. New Delhi metallo-b-lactamase and multidrug resistance: A global SOS? **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 4, p. 485–487, 2011.
- BRACKMAN, G.; COENYE, T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. **Current Pharmacy Disease**, v. 21, n. 1, p. 5–11, 2015.
- BRYAN, J. From snake venom to ACE inhibitor - The discovery and rise of captopril. **Pharmaceutical Journal**, v. 282, n. 7548, p. 455–456, 2009.
- BUSSCHER, H. J. et al. Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 153, p. 153rv10–153rv10, 2012.
- CALVETE, J. J. et al. Venoms, venomics, antivenomics. **FEBS Letters**, v. 583, n. 11, p. 1736–1743, 2009.
- CARSON, L. et al. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of Proteus mirabilis and Escherichia coli. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, 2010.
- CEROVSKY, V. et al. Melectin : A Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Cleptoparasitic Bee Melecta albifrons. **ChemBioChem**, v. 6, p. 2815–2821, 2008.
- CHALIGNON, P. et al. Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, n. 1, p. 125–132, 2007.
- CINTRA, A. C. O.; VIEIRA, C. A.; GIGLIO, J. R. Primary structure and biological activity of bradykinin potentiating peptides from Bothrops insularis snake venom. **Journal of Protein Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 221–227, 1990.
- CORRÊA-NETTO, C. et al. Snake venomics and venom gland transcriptomic analysis of Brazilian coral snakes, Micrurus altirostris and M. corallinus. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 9, p. 1795–1809, 2011.
- COSTERTON, J. W. et al. How bacteria stick. **Scientific American**, v. 238, p. 86–

95, 1978.

COSTERTON, J. W. Introduction to biofilm. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 11, p. 217–221, 1999.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1318–1322, 1999.

DAROUICHE, R. O. Device-Associated Infections : A Macroproblem that Starts with Microadherence. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1567–1572, 2001.

DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G. A. Microbial Biofilms : from Ecology to Molecular Genetics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 847–867, 2000.

DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 2, n. 2, p. 114–122, 2003.

DEAN, S. N.; BISHOP, B. M.; VAN HOEK, M. L. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm to Alpha-Helical Peptides: D-enantiomer of LL-37. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n. July, p. 1–11, 2011a.

DEAN, S. N.; BISHOP, B. M.; VAN HOEK, M. L. Natural and synthetic cathelicidin peptides with anti-microbial and anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus*. **BMC microbiology**, v. 11, n. 1, p. 114, jan. 2011b.

DI MARTINO, P. et al. *Klebsiella pneumoniae* type 3 pili facilitate adherence and biofilm formation on abiotic surfaces. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 1, p. 9–16, 2003.

DUNNE, W. M. Bacterial Adhesion : Seen Any Good Biofilms Lately? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 155–166, 2002.

ELIAS, S.; BANIN, E. Multi-species biofilms: Living with friendly neighbors. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 5, p. 990–1004, 2012.

FERNANDES-PEDROSA, M. F.; FÉLIX-SILVA, J.; MENEZES, Y. A S. Toxins from Venomous Animals: Gene Cloning , Protein Expression and Biotechnological Applications. **An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology - From Analytical Procedures to Biomedical Applications**, p. 23–72, 2013.

FERREIRA, S. H. A Bradykinin-Potentiating Factor (Bpf) Present in the Venom of *Bothrops Jararaca*. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 24, n. 1, p. 163–169, 1965.

FLEMMING, H.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Publishing Group**, v. 8, n. 9, p. 623–633, 2010.

FRANCOLINI, I.; DONELLI, G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. **FEMS Immunology and Medical Microbiology Med Microbiol** **59**, v. 59, p. 227–238, 2010.

FRIDKIN, S. K. et al. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: Project ICARE phase 2. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, n. 2, p. 245–252, 1999.

FRY, B. G. et al. The toxicogenomic multiverse: convergent recruitment of proteins into animal venoms. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 10, p. 483–511, 2009.

FU, W. et al. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an in vitro model system. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 1, p. 397–404, 2010.

FUX, C. A. et al. Survival strategies of infectious biofilms. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 34–40, 2005.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 95–108, fev. 2004.

HARVEY, A. L. Toxins and drug discovery. **Toxicon**, v. 92, p. 193–200, 2014.

HENGZHUANG, W. et al. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and imipenem on mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 9, p. 4469–4474, 2011.

HETT, E. C.; HUNG, D. T. Targeting Multiple Biofilm Pathways. **Chemistry & Biology**, v. 16, n. 12, p. 1216–1218, 2009.

HIRAKAWA, H.; TOMITA, H. Interference of bacterial cell-to-cell communication: A new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. MAY, p. 1–14, 2013.

HØIBY, N. et al. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 35, p. 322–332, 2010.

HØIBY, N. et al. The clinical impact of bacterial biofilms. **International Journal of Oral Science**, n. March, p. 55–65, 2011.

HØIBY, N. Recent advances in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections

- in cystic fibrosis. **BMC Medicine**, v. 9, p. 32, 2011.
- HØIBY, N. et al. ESCMID * guideline for the diagnosis and treatment of bio fi lm infections 2014. **Clinical Microbiology and Infection**, p. 1–25, 2014.
- HOLA, V.; RUZICKA, F. The Formation of Poly-Microbial Biofilms on Urinary Catheters. In: **Urinary Tract Infections**. ISBN: 978- ed. [s.l.] InTech, 2001. p. 153–172.
- HOYLE, B. D.; ALCANTARA, J.; COSTERTON, J. W. Pseudomonas aeruginosa Biofilm as a Diffusion Barrier to Piperacillin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, n. 9, p. 2054–2056, 1992.
- HUNG, C. et al. Escherichia coli biofilms have an organised and complex extracellular matrix structure. **mBio**, v. 4, n. 5, p. e00645–13, 2013.
- IANZER, D. et al. Identification of five new bradykinin potentiating peptides (BPPs) from Bothrops jararaca crude venom by using electrospray ionization tandem mass spectrometry after a two-step liquid chromatography. **Peptides**, v. 25, n. 7, p. 1085–1092, 2004.
- JONES, C. J. et al. AmrZ modulates pseudomonas aeruginosa biofilm architecture by directly repressing transcription of the psl operon. **Journal of Bacteriology**, v. 195, n. 8, p. 1637–1644, 2013.
- KAAS, Q.; CRAIK, D. J. Bioinformatics-aided venomomics. **Toxins**, v. 7, n. 6, p. 2159–2187, 2015.
- KAPLAN, J. Therapeutic potential of biofilm-dispersing enzymes. **International Journal of Artificial Organs**, v. 32, n. 9, p. 545–554, 2009.
- KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimaing bacteria-material interactions. **European Cells and Materials**, v. 8, p. 37–57, 2004.
- KAZEMZADEH-NARBAT, M. et al. Biomaterials Antimicrobial peptides on calcium phosphate-coated titanium for the prevention of implant-associated infections. **Biomaterials**, v. 31, n. 36, p. 9519–9526, 2010.
- KERR, K. G.; SNELLING, A. M. Pseudomonas aeruginosa: a formidable and ever-present adversary. **Journal of Hospital Infection**, v. 73, n. 4, p. 338–344, 2009.
- KIEVIT, T. R. D. E. et al. Quorum-Sensing Genes in Pseudomonas aeruginosa Biofilms: Their Role and Expression Patterns. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 4, p. 1865–1873, 2001.

KINCH, M. S. et al. An overview of FDA-approved new molecular entities: 1827–2013. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 8, p. 1033–1039, 2014.

KING, G. Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics. **Expert Opin Biol Ther.**, v. 11, n. 11, p. 1469–1484, 2011.

KING, G. Venoms to Drugs: Translating Venom Peptides into Therapeutics. **Australian Biochemist**, v. 44, n. 3, p. 13–16, 2013.

KLEIN, R. C.; FABRES-KLEIN, M. H.; OLIVEIRA, L. L. DE. A C-Type Lectin from Bothrops jararacussu Venom Disrupts Staphylococcal Biofilms. **Plos One**, p. 1–16, 2015.

KVIST, M.; HANCOCK, V.; KLEMM, P. Inactivation of Efflux Pumps Abolishes Bacterial Biofilm Formation □. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 23, p. 7376–7382, 2008.

KWIECINSKA-PIRÓG, J. et al. Proteus mirabilis biofilm - Qualitative and quantitative colorimetric methods-based evaluation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1415–1421, 2014.

LARABA-DJEBARI, F.; FATAH, C. Pathophysiological and Pharmacological Effects of Snake Venom Components: Molecular Targets. **Journal of Clinical Toxicology**, v. 4, n. 2, p. 190, 2014.

LEWIS, R. J. et al. Conus venom peptide pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 64, n. 2, p. 259–98, 2012.

LEWIS, R. J.; GARCIA, M. L. Therapeutic potential of venom peptides. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 10, p. 790–802, 2003.

LÓPEZ, D.; VLAMAKIS, H.; KOLTER, R. Biofilms. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, p. 1–11, 2010.

MACEDO, A. J.; ABRAHAM, W. Can Infectious Communication? Biofilm be Controlled by Blocking Bacterial. **Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 517–528, 2009.

MAH, T. C.; TOOLE, G. A. O. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. **TRENDS in Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 34–39, 2001.

MARQUES-PORTO, R.; LEBRUN, I.; PIMENTA, D. C. Self-proteolysis regulation in the Bothrops jararaca venom: The metallopeptidases and their intrinsic peptidic inhibitor. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 147, n. 4, p. 424–433, 2008.

MIQUEL, S. et al. Anti-biofilm Activity as a Health Issue. **Frontiers in Microbiology**,

v. 7, n. April, p. 1–14, 2016.

MOHANTY, I. et al. Immunomodulatory and therapeutic potential of zootoxins (venom and toxins) on the way towards designing and developing novel drugs/medicines: An overview. **International Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 126–135, 2016.

MOJSOSKA, B.; JENSSEN, H. Peptides and Peptidomimetics for Antimicrobial Drug Design. **Pharmaceuticals**, v. 8, n. 3, p. 366–415, 2015.

MOREAU-MARQUIS, S.; STANTON, B. A. B.; O'TOOLE, G. G. A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation in the cystic fibrosis airway. **Pulmonary pharmacology & ...**, v. 21, n. 4, p. 595–599, 2008.

MUNAWAR, A. et al. Venom peptide analysis of *Vipera ammodytes meridionalis* (Viperinae) and *Bothrops jararacussu* (Crotalinae) demonstrates subfamily-specificity of the peptidome in the family Viperidae. **Molecular BioSystems**, v. 7, n. 12, p. 3298, 2011.

MUNEKIYO, S. M.; MACKESSY, S. P. Presence of peptide inhibitors in rattlesnake venoms and their effects on endogenous metalloproteases. **Toxicon**, v. 45, n. 3, p. 255–263, 2005.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.; PFALLER, M. Enterobacteriaceae. In: **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 299–313.

NADELL, C. D.; XAVIER, J. B.; FOSTER, K. R. The sociobiology of biofilms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 33, p. 206–224, 2009.

NAHER, J. et al. A Comparative Study on the Biofilm Formation of *Enterobacter agglomerans* and *Serratia rubideae* in Different Environmental Parameter under Single Culture Condition. **Open Journal of Medical Microbiology**, v. 04, n. 01, p. 70–76, 2014.

NICOLAU, C. A. et al. An in-depth snake venom proteopeptidome characterization: Benchmarking *Bothrops jararaca*. **Journal of Proteomics**, v. 151, p. 214–231, 2016.

OKAHASHI, N. et al. Microbial Pathogenesis Pili of oral *Streptococcus sanguinis* bind to salivary amylase and promote the biofilm formation. **Microbial Pathogenesis**, v. 50, n. 3-4, p. 148–154, 2011.

OTTO, M. Staphylococcal biofilms. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 322, p. 207–228, 2008.

OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* —. **Building**, v. 7, n. August, 2009.

OTTO, M. Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections. **Seminar of Immunopathology**, v. 34, p. 201–214, 2012.

PAN, J.; REN, D. Quorum sensing inhibitors : a patent overview. **Expert Opinion Therapy Patents**, v. 19, n. 11, p. 1581–1601, 2009.

PASCUAL, A. Pathogenesis of catheter-related infections : lessons for new designs. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 8, p. 256–264, 2002.

PATERSON, D. L. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. **American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6 SUPPL. 1, p. 20–28, 2006.

PAVITHRA, D.; DOBLE, M. Biofilm formation , bacterial adhesion and host response on polymeric implants — issues and prevention. **Biomedical Materials**, v. 034003, p. 1–13, 2008.

PERCIVAL, S. L.; SULEMAN, L.; DONELLI, G. Healthcare-Associated infections, medical devices and biofilms: Risk, tolerance and control. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 4, p. 323–334, 2015.

PLETZER, D.; COLEMAN, S. R.; HANCOCK, R. E. Anti-biofilm peptides as a new weapon in antimicrobial warfare. **Current Opinion in Microbiology**, v. 33, p. 35–40, 2016.

RÁDIS-BAPTISTA, G. et al. Identification of crotasin, a crotamine-related gene of Crotalus durissus terrificus. **Toxicon**, v. 43, n. 7, p. 751–759, 2004.

RASKO, D. A.; SPERANDIO, V. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 2, p. 117–128, 2010.

RAULIO, M. et al. Microbe repelling coated stainless steel analysed by field emission scanning electron microscopy and physicochemical methods. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 751–760, 2008.

REEKS, T. A.; FRY, B. G.; ALEWOOD, P. F. Privileged frameworks from snake venom. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, p. 1939–1958, 2015.

RICE, S. A et al. Biofilm Formation and Sloughing in Serratia marcescens Are Controlled by Quorum Sensing and Nutrient Cues Biofilm Formation and Sloughing in Serratia marcescens Are Controlled by Quorum Sensing and Nutrient Cues. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 10, p. 3477–3485, 2005.

RIVARDO, F. et al. Synergistic effect of lipopeptide biosurfactant with antibiotics against Escherichia coli CFT073 biofilm. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 37, n. 4, p. 324–331, 2011.

RØDER, H. L.; SØRENSEN, S. J.; BURMØLLE, M. Studying Bacterial Multispecies Biofilms: Where to Start? **Trends in Microbiology**, v. xx, n. 6, p. 1–11, 2016.

RUTHERFORD, S. T.; BASSLER, B. L. Bacterial Quorum Sensing : Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 2, p. 1–25, 2012.

SIMÕES, M.; BENNETTB, R. N.; ROSAB, E. A. S. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 746–757, 2009.

SMITH, C.; VANE, J. The Discovery of Captopril. **The FASE B Journal**, v. 17, p. 788–789, 2003.

SOULI, M.; GIAMARELLOU, H. Effects of Slime Produced by Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci on Activities of Various Antimicrobial Agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 4, p. 939–941, 1998.

STICKLER, D. J. Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. **Nature**, v. 5, n. 11, p. 598–608, 2008.

STOODLEY, P. et al. C OMMUNITIES. p. 187–209, 2002.

SUTHERLAND, I. W. et al. The interaction of phage and biofilm. **FEMS Microbiology Letters**, v. 232, p. 2–7, 2004.

THOMPSON, L. J. et al. Carbon : nitrogen : phosphorus ratios influence biofilm formation by *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 101, n. 5, p. 1105–1113, 2006.

TOLKER-NIELSEN, T. Pseudomonas aeruginosa biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. **APMIS**, v. 122, n. s138, p. 1–51, 2014.

TRENTIN, D. DA S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 213–238, 2013.

TRETER, J.; MACEDO, A. J. Catheters : a suitable surface for biofilm formation. In: **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. [s.l: s.n.]. p. 835–842.

TSUI, I. S. M. et al. The Type IVB Pili of Salmonella enterica Serovar Typhi Bind to the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 10, p. 6049–6050, 2003.

UNDHEIM, E.; FRY, B.; KING, G. Centipede Venom: Recent Discoveries and

Current State of Knowledge. **Toxins**, v. 7, n. 3, p. 679–704, 2015.

VEERACHAMY, S. et al. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review. **Journal of engineering in medicine**, v. 228, n. 10, p. 1083–99, 2014.

VERGARA, I. et al. Eastern coral snake *Micrurus fulvius* venom toxicity in mice is mainly determined by neurotoxic phospholipases A2. **Journal of Proteomics**, v. 105, p. 295–306, 2014.

VUONG, C.; OTTO, M. Staphylococcus epidermidis infections. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 481–489, 2002.

WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum Sensing: Communication in Bacteria. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 21, p. 319–346, 2005.

WU, H. et al. Strategies for combating bacterial biofilm infections. **International Journal of Oral Science**, v. 7, n. July 2014, p. 1–7, 2015.

XAVIER, B.; MARTINEZ-GARCIA, E.; FOSTER, K. R. Social Evolution of Spatial Patterns in Bacterial Biofilms : **The American Naturalist**, v. 174, n. 1, p. 1–12, 2009.

YANG, L. et al. Current understanding of multi-species biofilms. **International Journal of Oral Science**, v. 3, n. 2, p. 74–81, 2011.

YANG, L. et al. Combating biofilms. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 146–157, 2012.

YUAN, S. et al. Lysozyme-Coupled Poly (poly (ethylene glycol) methacrylate) - Stainless Steel Hybrids and Their Antifouling and Antibacterial Surfaces. **Langmuir**, v. 27, p. 2761–2774, 2011.

ZAMBELLI, V. O. et al. Harnessing the knowledge of animal toxins to generate drugs. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 30–36, 2016.

ZERAIK, A. E.; NITSCHKE, M. Biosurfactants as Agents to Reduce Adhesion of Pathogenic Bacteria to Polystyrene Surfaces: Effect of Temperature and Hydrophobicity. **Current Microbiology**, v. 61, p. 554–559, 2010.

ZHANG, Y. et al. Structure-function relationship of king cobra cathelicidin. **Peptides**, v. 31, n. 8, p. 1488–1493, 2010.

ZUCCA, M.; SCUTERA, S.; SAVOIA, D. New Antimicrobial Frontiers. **Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 888–900, 2011.